

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANGÉLICA VASSELA

**ESTUDO CLÍNICO-HISTOLÓGICO DAS ALTERAÇÕES DE PELE E ASSOCIAÇÃO
COM DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO EM PACIENTES
PEDIÁTRICOS SUBMETIDOS A TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO
HEMATOPOÉTICAS NO SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA
DO HC-UFPR**

CURITIBA

2008

ANGÉLICA VASSELAI

**ESTUDO CLÍNICO-HISTOLÓGICO DAS ALTERAÇÕES DE PELE E ASSOCIAÇÃO
COM DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO EM PACIENTES
PEDIÁTRICOS SUBMETIDOS A TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO
HEMATOPOÉTICAS NO SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA
DO HC-UFPR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente com área de concentração em Dermatologia Pediátrica.

Comissão de Orientação:
Prof.^a Dr.^a Vânia Oliveira Carvalho
Prof.^a Kerstin Taniguchi Abagge

CURITIBA

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ.
SISTEMA DE BIBLIOTECAS. BIBLIOTECA CENTRAL.
COORDENAÇÃO DE PROCESSOS TÉCNICOS.
Ficha catalográfica

V312 Vasselai, Angélica
Estudo clínico-histológico das alterações de pele e associação com DECH em pacientes pediátricos submetidos a transplante de células-tronco hematopoéticas no Serviço de Transplante de Medula Óssea do HC-UFPR / Angélica Vasselai. — 2008.
76f. : il.; tabs.

Orientadoras: Vânia Oliveira Carvalho, Kerstin Taniguchi Abagge
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, Programa Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente.
Defesa: Curitiba, 2008.
Área de Concentração: Dermatologia Pediátrica

1. Pele – Doenças. 2. Dermatologia pediátrica.
3. Células - Tronco. 4. Serviço de Transplante de Medula Óssea do HC-UFPR. I. Carvalho, Vânia Oliveira. II. Abagge, Kerstin Taniguchi. III. Título.

CDD 22.ed. 616.5

Samira Elias Simões CRB-9 / 755

*Aos meus pais, Antenor e Marli,
pelo amor incondicional aos filhos e por
serem um exemplo de honestidade,
determinação e humildade.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Prof.^a Leide Parolin Marinoni, pelo exemplo de dedicação à busca constante do conhecimento, do respeito e amor ao próximo.

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a Dr.^a Vânia Oliveira Carvalho e à Prof.^a Kerstin Taniguchi Abagge, pela orientação, não apenas na pós-graduação, mas principalmente em minha formação dermatológica.

Ao Hospital de Clínicas e seus pacientes, pela vivência pessoal e profissional inestimável.

Ao Departamento de Pediatria, em especial ao seu grupo fundador: Prof. Dr. Izrail Cat, Prof. Orival Costa, Prof. Dr. Jose Dinarte Giraldi e Prof.^a Leide Parolin Marinoni.

Ao Serviço de Dermatopediatria, Departamento de Pediatria, Hospital de Clínicas – UFPR, pela confiança e incentivo, em especial à suas professoras: Prof.^a Leide Marinoni Parolin, Prof.^a Kerstin Taniguchi Abagge, Prof.^a Susana Giraldi e Prof.^a Dr.^a Vânia Oliveira Carvalho, que me possibilitaram uma profissão prazerosa e gratificante.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, em nome de sua coordenadora, Prof.^a Dr.^a Mônica Nunes Lima Cat, e a seus professores pelos ensinamentos recebidos.

Ao Departamento de Patologia Médica - HC – UFPR, pela disponibilidade do material, equipamento e instalações para este estudo, e pela convivência harmoniosa e alegre.

À Prof.^a Dr.^a Betina Werner, pelo profissionalismo, disponibilidade, e amizade, sem a qual este trabalho não poderia ter sido realizado. Profissional comprometida com o estudo e o ensino, é valiosa professora em minha formação.

Às amigas, pessoais e profissionais, Juliana Loyola Pressa e Lygia Coimbra de Manoel, pelo incentivo e companheirismo.

Aos professores, médicos, enfermeiros, residentes, especializandos, mestrandos, doutorandos e funcionários do Departamento de Pediatria da UFPR, pela contribuição na formação profissional.

À Prof.^a Dr.^a Mônica Nunes Lima Cat, pela ajuda na análise estatística e pelas correções na qualificação.

Aos funcionários do Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas – UFPR pela boa vontade na busca dos prontuários.

À equipe de assessoria estatística, em especial à Prof.^a Márcia Olandoski.

À Léia Rachel Castellar, pela ajuda com a formatação.

À Prof.^a Dr.^a Mara Albonei Dudeque Pianoviski e à Prof.^a Susana Giraldi pelas importantes sugestões na qualificação desta dissertação.

Ao Fabrício, pela alegria e companheirismo nas horas mais cansativas.

À minha família e amigos, que com amor e compreensão estão ao meu lado em todos os momentos.

*Há um tempo em que é preciso abandonar as
roupas usadas, que já tem a forma do nosso
corpo, e esquecer os nossos caminhos, que
nos levam sempre aos mesmos lugares. É o
tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la,
teremos ficado, para sempre, à margem de
nós mesmos.*

Fernando Pessoa

RESUMO

A Doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) é um processo imunológico resultante da ativação de linfócitos T do doador pelos antígenos do tecido do hospedeiro resultando em agressão imunológica contra a pele, trato gastrointestinal e fígado. A apresentação clínica da DECH na pele consiste em eritema que ocorre entre 1 e 8 semanas após o transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH). A biópsia cutânea é freqüentemente utilizada no diagnóstico diferencial das alterações de pele pós-TCTH, contudo sua interpretação é um desafio, pois apesar dos critérios histológicos da DECH estarem estabelecidos, outras complicações produzem manifestações histologicamente semelhantes. Este estudo se propõe a descrever o perfil clínico-histológico das alterações cutâneas em pacientes pediátricos submetidos ao TCTH no HC-UFPR e analisar as características clínicas e histológicas em relação a DECH. Foram avaliados retrospectivamente todos as alterações de pele submetidas a estudo histológico entre Janeiro de 2006 a Junho de 2007. Cada biópsia foi analisada para presença de 10 elementos histológicos. Constituíram a amostra deste estudo 36 casos de alterações cutâneas observadas em 28 pacientes submetidos ao TCTH alogênico. As alterações de pele ocorreram com mediana de 48,0 dias pós-TCTH, 77,8% como eritema cutâneo e 27 casos com suspeita clínica de DECH. O diagnóstico histológico alterou o diagnóstico clínico em 38,9%. Conforme a terapêutica empregada a amostra foi dividida em DECH e não DECH. No grupo DECH as alterações de pele ocorreram com mediana de 56,0 dias pós-TCTH, todas como eritema cutâneo. Atrofia epidérmica, queratinócitos necróticos, atipia nuclear e vacuolização basal foram mais freqüentemente observadas no grupo DECH, porém sem diferença significativamente significativa ($p>0,05$). Observou-se associação entre presença de vacuolização basal e a ausência de paraceratose com a DECH. Desta forma conclui-se que as alterações cutâneas biopsiadas se apresentaram como eritema em média 7 semanas após o TCTH. A suspeita clínica da DECH foi o principal motivo para realização da biópsia cutânea e seu estudo alterou a conduta clínica em 38,9% dos casos. A prevalência da DECH clínica foi de 67,8% e sua apresentação clínica mais freqüente foi eritema cutâneo em média seis semanas após o TCTH. No estudo histológico a presença de vacuolização da camada basal apresentou tendência como fator predisponente para DECH e a ausência de paraceratose como fator protetor para DECH.

Palavras-chave: Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro; Dermatopatias; Transplante de Células-tronco.

ABSTRACT

Graft-versus-host disease (GVHD) is an immunologic process that results from the activation of donor T lymphocytes when exposed to tissue from the host, leading to immunologic damage of the skin, gastrointestinal tract and liver. The main cutaneous manifestation of GVHD is characterized by a rash that occurs between 1 and 8 weeks following stem cell transplantation (SCT). Skin biopsy is frequently performed as a tool in the differential diagnosis of cutaneous lesions post-GVHD. Despite the availability of set histopathologic criteria for the diagnosis of GVHD, the interpretation is challenging, as a wide variety of other skin diseases can have a similar microscopic appearance. The aim of this study is to describe the clinicopathologic features of the cutaneous manifestations of GVHD in pediatric patients undergoing SCT at the HC-UFPR. The study consisted of a retrospective review of 36 cutaneous lesions with biopsies performed from 28 patients evaluated between January of 2006 to June of 2007 following allogeneic SCT. The glass slides were reviewed and analyzed for the presence or absence of 10 predetermined histologic findings. The median time between the transplant and the development of skin lesions was 48 days. The clinical manifestation was of a cutaneous rash in 77.8% of cases. GVHD was clinically suspected in 27 cases. The histopathologic impression altered the clinical diagnosis in 38.9% of cases. Patients were divided into 2 groups (GVHD and non-GVHD) based on the treatment outcome. The GVHD group developed cutaneous lesions in a median interval of 56 days post-transplant and all presented as a rash. In addition, the GVHD group showed more frequently the histopathologic findings of epidermal atrophy, necrotic keratinocytes, nuclear atypia and basal vacuolation. The presence of basal vacuolation in the absence of parakeratosis was found to have a strong association with a diagnosis of GVHD. However, none of these findings were statistically significant comparing with the non-GVHD group. In conclusion, the clinical manifestation of cutaneous lesions was rash observed in a median interval of 7 weeks post-SCT. The main indication for biopsy was a clinical suspicion of GVHD and the histologic study altered the clinical diagnosis in 38.9% of cases. The cutaneous manifestation of GVHD occurred in a median interval of 6 weeks after SCT as a skin rash and was present in 67.8% of patients. Finally, the finding of basal vacuolation with absence of parakeratosis appears to be associated with progression to GVHD.

Keywords: Graft vs Host Disease; Skin Disease; Stem Cell Transplantation.

LISTA DE TABELAS

1	DISTRIBUIÇÃO DAS DOENÇAS DE BASE DE ACORDO COM O GÊNERO	49
2	DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS	50
3	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS CONFORME A CONDUTA TERAPÊUTICA	53
4	ASSOCIAÇÃO ENTRE AS CONDUTAS TERAPÊUTICAS E O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO.....	53
5	CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS CONFORME A CONDUTA TERAPÊUTICA	54
6	ANÁLISE MULTIVARIADA	58
7	ANÁLISE DOS ELEMENTOS PARACERATOSE E VACUOLIZAÇÃO DA CAMADA BASAL COM DECH	58

LISTA DE QUADROS

1	DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS PÓS-TCTH	23
2	FATORES DE RISCO PARA DECH AGUDA.....	28
3	ESTADIAMENTO E GRADUAÇÃO PARA DECH AGUDA CONFORME IBMTR.....	29
4	GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA PARA DECH AGUDA	31
5	CLASSIFICAÇÃO DA DECH AGUDA E CRÔNICA	34
6	ELEMENTOS HISTOLÓGICOS ANALISADOS NAS AMOSTRAS DE BIÓPSIAS CUTÂNEAS	44
7	DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS, HISTOLÓGICOS E CONDUTAS TERAPÊUTICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS	51

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	IMUNOFISIOPATOLOGIA DA DECH.....	26
FIGURA 2	CONCEITO ATUAL DA CLASSIFICAÇÃO DA DECH	27
FIGURA 3	IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO QUERATINÓCITO NECRÓTICO (SETA), MÉDIO AUMENTO.....	55
FIGURA 4	IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO ATROFIA EPIDÉRMICA.....	55
FIGURA 5	IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO ATIPIA NUCLEAR (SETA), GRANDE AUMENTO	56
FIGURA 6	IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO INFILTRADO DÉRMICO DE CÉLULAS INFLAMATÓRIAS (SETA), GRANDE AUMENTO.....	56
FIGURA 7	IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO LINFÓCITO EPIDÉRMICO (SETA), MÉDIO AUMENTO.....	57
FIGURA 8	IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO ESPONGIOSE, MÉDIO AUMENTO	57
FIGURA 9	IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO PARACERATOSE (SETA) E ESPONGIOSE, MÉDIO AUMENTO	59
FIGURA 10	IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO VACUOLIZAÇÃO DA CAMADA BASAL.....	59
GRÁFICO 1	DISTRIBUIÇÃO DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS DE ACORDO COM A APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BANPESQ	- Banco de Pesquisa da Universidade Federal do Paraná
CAA	- Célula apresentadora de antígeno
CMH	- Complexo maior de histocompatibilidade
CMV	- Citomegalovírus
D	- Dia da infusão da medula óssea
DECH	- Doença do enxerto contra o hospedeiro
Fem.	- Feminino
HC-UFPR	- Hospital de Clínicas – Universidade Federal do Paraná
HLA	- Antígeno Leucocitário Humano (<i>Human leukocyte antigen</i>)
IBMTR	- Registro Internacional de Transplante de Medula Óssea (<i>Internacional Bone Marrow Transplant Registry</i>)
INF- γ	- Interferon gama
IL	- Interleucina
Masc.	- Masculino
MEDLINE	- Sistema online de busca e análise de literatura médica (<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>)
LMA	- Leucemia mieloide aguda
MO	- Medula óssea
Nasc.	- Nascimento
NET	- Necrólise epidérmica tóxica
PAS	- Ácido periódico de Schiff
RG-HC	- Registro geral no Hospital de Clínicas
SC	- Superfície corpórea
SCU	- Sangue de cordão umbilical
TCTH	- Transplante de células-tronco hematopoéticas
TGI	- Trato gastrointestinal
TGO	- Transaminase glutâmica oxalacética
Th1	- Célula T <i>helper</i> tipo 1
TMO	- Transplante de medula óssea
TNF- α	- Fator de necrose tumoral alfa (<i>Tumor necrosis factor-alpha</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1	NOMENCLATURA	16
2.2	HISTÓRICO	16
2.3	TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS (TCTH)	18
2.3.1	Fundamentos Terapêuticos para o TCTH	18
2.3.2	Modalidades de TCTH	19
2.3.3	Principais Características do Doador no TCTH	19
2.3.4	Técnicas Utilizadas no TCTH	20
2.3.5	Indicações para o TCTH	21
2.3.6	Complicações Posteriores ao TCTH	22
2.4	COMPLICAÇÕES CUTÂNEAS OBSERVADAS NO PERÍODO PÓS-TCTH	23
2.4.1	Doença do Enxerto contra o Hospedeiro (DECH)	24
2.4.1.1	Fisiopatologia da DECH	24
2.4.1.2	Aspectos clínicos da DECH	26
2.4.1.3	DECH hiperaguda	27
2.4.1.4	DECH aguda	27
2.4.1.5	DECH crônica	31
2.4.2	Infecções Observadas nos Pacientes Submetidos ao TCTH	35
2.4.3	Doenças Imunologicamente Mediadas no Período Pós-TCTH	37
2.4.4	Manifestações Cutâneas das Doenças de Base	37
2.4.5	Reações Não Específicas no Paciente Submetido ao TCTH	37
2.4.6	Reação Cutânea às Drogas no Paciente Submetido ao TCTH	38
2.4.7	Reações aos Agentes Quimioterápicos	39
2.5	BIÓPSIAS CUTÂNEAS NO PACIENTE SUBMETIDO AO TCTH	40
2.5.1	Interpretação Histológica das Biópsias de Pacientes Submetidos ao TCTH	40
3	MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1	CARACTERÍSTICA DO ESTUDO	42

3.2	PERÍODO E POPULAÇÃO DE ESTUDO	42
3.2.1	Critérios de Inclusão	42
3.2.2	Critérios de Exclusão	42
3.3	COLETA DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS MÉDICOS	43
3.4	REVISÃO DAS BIÓPSIAS CUTÂNEAS	44
3.5	IMAGENS HISTOLÓGICAS	45
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
3.7	FONTE DE DADOS BIBLIOGRÁFICOS	47
4	RESULTADOS	48
4.1	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES	48
4.2	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS BIOPSIADAS	49
4.3	CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS BIOPSIADAS	51
4.4	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS CONFORME A CONDUTA TERAPÊUTICA	52
4.5	CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS CONFORME A CONDUTA TERAPÊUTICA	53
4.6	ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS ELEMENTOS HISTOLÓGICOS E O DIAGNÓSTICO DE DECH	58
5	DISCUSSÃO	60
6	CONCLUSÃO	67
7	CONSIDERAÇÃO FINAL	68
	REFERÊNCIAS	69
	APÊNDICE - PROTOCOLO PARA COLETA DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS MÉDICOS	74
	ANEXO - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISAS EM SERES HUMANOS DO HC-UFPR	75

1 INTRODUÇÃO

O transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) representa importante terapia para muitas doenças do sistema linfo-hematopoético e metabólico. O aperfeiçoamento da técnica e o desenvolvimento de novas estratégias têm expandido seu uso, contudo as complicações observadas nos pacientes submetidos ao TCTH continuam sendo fator limitante na sobrevida (SUN et al., 2007).

Pacientes submetidos ao TCTH podem desenvolver várias complicações com manifestações cutâneas associadas. A Doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) tem sido uma das complicações mais extensamente estudada, pois constitui a maior causa de mortalidade e morbidade pós-TCTH, ocorre em aproximadamente metade dos pacientes submetidos ao TCTH alogênico e é fator contribuinte ou causa primária de óbito em 15% a 40% destes (DARMSTADT et al., 1992; JEROME et al., 1998).

A DECH é um processo imunológico resultante da ativação de linfócitos T do doador pelos antígenos de histocompatibilidade do tecido do hospedeiro resultando em agressão imunológica contra pele, trato gastrointestinal (TGI) e fígado (ZHOU; BARNETT; RIVERS, 2000). A apresentação clínica da DECH na pele se apresenta como eritema que ocorre entre uma a oito semanas após o TCTH (KOSSARD, 2000; CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003; HELDAL et al., 2004).

A biópsia cutânea é freqüentemente utilizada no diagnóstico diferencial das alterações de pele pós-TCTH, contudo sua interpretação continua um desafio, pois várias complicações pós-TCTH, como DECH, reação à quimioterapia, reação à droga e exantema viral, produzem manifestações histologicamente semelhantes (FIROZ et al., 2006).

Horn (1994) descreveu os critérios histológicos diagnósticos da DECH: vacuolização da camada basal, infiltrado inflamatório dérmico, linfócito epidérmico e a presença de mais de cinco queratinócitos necróticos por milímetro (mm) linear de epiderme. Na tentativa de validar os critérios histológicos para o diagnóstico da DECH vários autores têm estudado o valor dos elementos histológicos. Alguns trabalhos sugerem

que a presença de queratinócito necrótico é característica da DECH e pode distingui-la dos efeitos do condicionamento (FERRARA et al., 1986; FRIEDMAN; LEBOT; FARMER, 1988). Porém, a apoptose (morte celular programada) ocorre em resposta a várias agressões celulares, incluindo a agressão imunológica da DECH (mediada por citocinas ou linfócitos T ativados) e o condicionamento pré-TCTH, deste modo, com a incorporação de novas terapêuticas durante a evolução da técnica do TCTH, a interpretação histológica deste elemento vem sendo questionada (SALE et al., 1977; SVILAND et al., 1988; JEROME et al., 1998). Alguns autores, quando interpretaram linfócitos epidérmicos associados a infiltrado inflamatório dérmico, consideraram a importância da agressão linfocítica envolvida na fisiopatologia da doença (HYMES et al., 1985; SVILAND et al., 1988; JEROME et al., 1998). Embora o significado histológico da vacuolização ainda não seja bem definido, é um elemento que deve ser considerado no estudo histológico, principalmente na fase aguda, pois é uma das primeiras alterações histológicas da DECH (LODDO, 1993).

A DECH cutânea é geralmente a primeira manifestação clínica e histológica do início da doença. Como o início da terapêutica é fator determinante no prognóstico da doença, o diagnóstico precoce e conseqüente terapêutica pode melhorar a evolução dos pacientes após TCTH. O diagnóstico bem estabelecido resulta em terapêutica com relação benefício-malefício favorável, pois o tratamento para DECH introduz drogas imunossupressoras relacionadas com maior morbidade e mortalidade (DARMSTADT et al., 1992; JEROME et al., 1998). Estas constatações, associadas ao fato do Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná ser referência nacional para TCTH, motivou o estudo das alterações cutâneas e sua histologia neste grupo de pacientes, com os objetivos de descrever seu perfil clínico-histológico e analisar os elementos clínicos e histológicos em relação ao diagnóstico da DECH.

1.1 OBJETIVOS

1. Descrever o perfil clínico-histológico das alterações cutâneas em pacientes pediátricos, submetidos à biópsia após TCTH, no período de janeiro de 2006 a junho de 2007.
2. Analisar os elementos clínicos e histológicos das alterações de pele em relação ao diagnóstico da DECH.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O transplante de células-tronco hematopoéticas consiste na infusão intravenosa de células progenitoras hematopoéticas com o objetivo de restabelecer a função medular nos pacientes com medula óssea (MO) danificada ou defeituosa (ARMITAGE, 1994).

2.1 NOMENCLATURA

As células progenitoras hematopoéticas utilizadas no transplante foram denominadas células-tronco hematopoéticas. Assim, o termo transplante de medula óssea (TMO) vem sendo modificado por um termo mais específico: transplante de células-tronco hematopoéticas, pois tal denominação reflete melhor o tipo de procedimento realizado e o tipo de célula que o paciente irá receber para reconstituir sua MO (THOMAS, 2000).

2.2 HISTÓRICO

O histórico do TCTH tem vários aspectos peculiares, desde os estudos iniciais até o seu reconhecimento, em 1990, com o Prêmio Nobel de medicina outorgado a Edward Donnall Thomas (CASTRO JR.; GREGIANIM; BRUNETTO, 2001).

Osgood, Riddle e Mathews (1939)¹ (apud ARMITAGE, 1994) realizaram a primeira utilização intravenosa de MO, no tratamento de um paciente com anemia aplástica, porém esta via foi desconsiderada por muitos anos.

¹ OSGOOD, E. E.; RIDDLE, M. C.; MATHEWS, T. J. Aplastic anemia treated with daily transfusions and intravenous marrow; case report. **Ann Intern Med**, v.13, p.357-367, 1939.

A descrição da atual técnica de TCTH começou quando Lorenz et al. (1951)² (apud THOMAS, 2000) observaram recuperação hematopoética após infusão de MO em camundongos irradiados.

Após a Segunda Guerra Mundial vários estudos foram realizados com a utilização de MO conferindo radioproteção em animais irradiados. Estes estudos foram realizados principalmente após a observação dos efeitos sobre a hematopoese das bombas atômicas lançadas sobre Hiroshima e Nagasaki (LODDO, 1993).

Barnes et al. em 1956³ (apud THOMAS, 2000) relataram tratamento para leucemia em camundongos com irradiação seguida de infusão de MO de camundongos sem a doença. A idéia do TMO foi rapidamente transportada para a clínica buscando-se a proteção contra os efeitos mieloablativos da quimioterapia e da radioterapia e a correção de falências medulares (LODDO, 1993; THOMAS, 2000). Até a década de sessenta os únicos transplantes bem-sucedidos utilizavam doadores irmãos gêmeos idênticos, transplantes alogênicos bem-sucedidos só foram possíveis no final desta década, depois da caracterização do HLA (*human leukocyte antigen*), o sistema de antígenos humanos leucocitários (THOMAS, 2000).

No seguimento de pacientes tratados com transplante alogênico observou-se que células alogênicas enxertadas podiam desencadear agressão imunológica contra o hospedeiro resultando em uma síndrome denominada secunda doença. Esta doença era resultado da reação imunológica dos linfócitos enxertados contra os tecidos do hospedeiro, atualmente conhecida como Doença do enxerto contra o hospedeiro (THOMAS, 2000).

² LORENZ, E. et al. Modification of irradiation injury in mice and guinea-pigs by bone marrow injections. **J Natl Cancer Inst**, v.12, p.197-201, 1951.

³ Barnes, D. W. H. et al. Treatment of murine leukaemia with x-rays and homologous bone marrow. Preliminary communication. **Br Med J**, v.2, p.626-627, 1956.

A melhor compreensão da técnica do TCTH levou a busca de outras fontes de células progenitoras hematopoéticas, Gluckman et al. (1989)⁴ (apud ROCHA et al., 2000) descreveram o primeiro transplante de células de cordão umbilical expandindo as indicações do TCTH. A partir de 1992, o sangue de cordão umbilical (SCU) passou a ser sistematicamente congelado com a criação do Programa de sangue de placenta no Centro de Hemoterapia de Nova York (RUBINSTEIN et al., 1998).

Na década de 90, técnicas moleculares possibilitaram a caracterização mais precisa da histocompatibilidade, tornando mais eficiente a busca de doadores não aparentados. Os avanços da técnica e o sucesso em pacientes com doenças em estágios avançados possibilitaram considerar o transplante antes dos estágios terminais da doença. O TCTH começou a ser indicado para pacientes com variedade de doenças malignas que tinham em comum a probabilidade de falência de outras formas de terapia e também para pacientes com doenças não malignas, como imunodeficiências (THOMAS, 2000).

No Brasil, os estudos iniciais foram realizados por Ricardo Pasquini, Euripedes Ferreira e equipe, no Paraná. Este grupo foi o pioneiro no Brasil e em 1979 realizou o primeiro transplante no país. Em 1987, foi realizado o primeiro transplante autólogo de MO em criança portadora de tumor sólido no Hospital Sírio-Libanês, São Paulo, Brasil, e em 1993, Frederico Dulley e Celso Massumoto realizam o primeiro transplante alogênico de MO nessa mesma instituição (TMO, 2008).

2.3 TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS (TCTH)

2.3.1 Fundamentos Terapêuticos para o TCTH

O fundamento para o TCTH está baseado no fato de que todas as células maduras que circulam no sangue, glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas,

⁴ GLUCKMAN, E.; BROXMEYER, H. A.; AUERBACH, A. D. et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. **N Engl J Med**, v.321, p.1174-1178, 1989.

provêm de única célula, contida na medula óssea, denominada célula-tronco. A partir de um doador coletam-se as células progenitoras, capazes de reconstituir a MO, as quais são infundidas no receptor após preparo adequado deste com o regime de condicionamento (KOSSARD, 2000).

2.3.2 Modalidades de TCTH

Há três modalidades de TCTH: o transplante alogênico, no qual o paciente recebe a medula de outra pessoa, que pode ser algum familiar (doador aparentado) ou não (doador não aparentado); o transplante singênico, no qual o doador é um irmão gêmeo idêntico; e o transplante autogênico, que utiliza as células do paciente, coletadas após a administração de altas doses de quimioterápicos (AZEVEDO; RIBEIRO, 2000; KOSSARD, 2000).

2.3.3 Principais Características do Doador no TCTH

Diferente do que ocorre na maioria dos transplantes de órgãos sólidos, o grau de compatibilidade imunológica entre o doador e o paciente é crucial para o sucesso dos transplantes de MO (LODDO, 1993). Os HLA são proteínas codificadas por genes do Complexo maior de histocompatibilidade (CMH) e que estão expressos na superfície das células nucleadas. Sua presença é fundamental na ativação de células T alogênicas (HÄUSERMANN et al., 2008).

A seleção do doador é feita utilizando a tipagem dos antígenos HLA, que estão codificados no braço curto do cromossomo 6, na posição p21. A base do tipo de HLA segue as regras genéticas mendelianas, isto é, quaisquer dois irmãos possuem uma em quatro chances de dividirem o mesmo tipo de HLA, exceto por aproximadamente 1% de chances de recombinação. As chances de uma pessoa ter um irmão HLA-idêntico são calculadas na fórmula $1 - (0,75)^n$, onde n representa o número de potenciais doadores irmãos (LODDO, 1993; ARMITAGE, 1994; GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001).

Quando o paciente pode se beneficiar do TCTH alogênico e não possui um irmão HLA-idêntico, pode-se recorrer a duas possibilidades: identificar um doador

não aparentado com HLA semelhante; ou utilizar a MO de um doador aparentado com HLA não perfeitamente idêntico (ARMITAGE, 1994).

2.3.4 Técnicas Utilizadas no TCTH

Os atuais métodos do TCTH são modificações da técnica desenvolvida por Thomas e Storb (1970).

O TCTH é precedido do condicionamento pré-transplante, cuja finalidade é destruir as células tumorais ou outras células anormais, permitindo a cura da doença de base, assim como induzir imunossupressão que evite a destruição das células infundidas e, em alguns pacientes, prover espaço para o crescimento de nova medula (ARMITAGE, 1994; VOLTARELLI; STRACIERI, 2000).

A irradiação corporal total foi primeiramente utilizada isoladamente como agente de condicionamento para o TCTH, sendo posteriormente associada à ciclofosfamida, combinação que é utilizada até hoje (THOMAS, 2000).

As células progenitoras hematopoéticas podem ser coletadas diretamente da crista ilíaca, do sangue periférico ou, mais recentemente, do sangue de cordão umbilical (THOMAS, 2000).

O uso de células progenitoras hematopoéticas periféricas nos transplantes alogênicos acelera a recuperação de leucócitos e plaquetas, sendo economicamente mais vantajoso do que o uso da medula óssea. No entanto, vários autores vêm descrevendo aumento da incidência da DECH quando se usa essa fonte de células (CUTLER et al., 2001; HELDAL et al., 2004; SCHMITZ et al., 2006).

As células podem ser manipuladas previamente à infusão, sendo a depleção de linfócitos T uma forma de diminuir a incidência da DECH, principalmente quando existe algum grau de incompatibilidade HLA entre doador e paciente (THOMAS, 2000).

O dia da infusão da medula óssea (D) é denominado dia zero. Os dias anteriores, quando é realizado o condicionamento, são denominados como negativos (-2, -1) e os posteriores como positivos (+2, +3). Após a infusão, a MO de um transplantado permanece aplásica por um período aproximado de duas a três semanas. Neste período, é maior o risco de ocorrerem infecções, anemia e sangramentos.

Os fatores de estimulação de colônias de granulócitos e macrófagos também podem ser utilizados no período pós-TCTH para acelerar a recuperação da série branca, embora seu uso não seja consensual (KOSSARD, 2000).

2.3.5 Indicações para o TCTH

Os TCTH alogênico e singênico podem ser utilizados para o tratamento de diversas doenças (CASTRO JR.; GREGIANIM; BRUNETTO, 2001):

1. Doenças não neoplásicas:

- anemia aplástica grave;
- anemia de Fanconi;
- imunodeficiências (Chediaki Higashi, Wiskott-Aldrich, imunodeficiência combinada grave);
- osteopetrose;
- doenças de acúmulo (adrenoleucodistrofia, leucodistrofia metacromática infantil);
- talassemia maior;
- anemia falciforme com manifestações graves e com doador aparentado disponível.

2. Doenças neoplásicas:

- leucemia mielóide crônica;
- leucemia mielóide aguda (LMA) em primeira remissão com fatores de mau prognóstico ou em segunda remissão;
- leucemia linfocítica aguda em primeira remissão com fatores de mau prognóstico ou em remissões subsequentes;
- síndromes mielodisplásicas, incluindo a monossomia do cromossomo 7 e leucemia mielomonocítica crônica;
- mielofibrose maligna aguda;
- linfomas não Hodgkin em segunda ou terceira remissão.

O TCTH autogênico pode ser eficaz no tratamento das seguintes doenças (CASTRO JR.; GREGIANIM; BRUNETTO, 2001):

- linfoma de Hodgkin em segunda remissão;
- linfoma não Hodgkin em segunda remissão;
- neuroblastoma avançado, sendo que nesta doença o transplante associado ao uso de ácido retinóico tem um impacto positivo no prognóstico;
- sarcoma de Ewing em segunda remissão, onde tenha ocorrido ressecção completa do tumor;
- LMA, que mesmo sendo uma doença onde a MO é comprometida, a realização de transplante autogênico após a remissão tem impacto positivo em alguns estudos;
- tumor de Wilms em segunda remissão;
- tumor de células germinativas em segunda remissão;
- meduloblastoma de alto risco ou em segunda remissão.

2.3.6 Complicações Posteriores ao TCTH

As principais complicações pós-TCTH são a rejeição do enxerto, DECH, pneumonite intersticial, infecções, doença veno-oclusiva hepática e disfunções de múltiplos órgãos (SULLIVAN et al., 1991).

A rejeição do enxerto representa a sua destruição por células imunologicamente ativas do hospedeiro, enquanto na DECH o enxerto reage contra o hospedeiro, resultado de processo imunológico da ativação de linfócitos T do doador pelos antígenos de histocompatibilidade nos tecidos do hospedeiro (ARMITAGE, 1994; ZHOU; BARNETT; RIVERS, 2000).

A pneumonite intersticial é causa freqüente de óbito pós-TCTH alogênico e é caracterizada por febre, infiltrado pulmonar, hipóxia e síndrome do *distress* respiratório (ARMITAGE, 1994).

As infecções são causas comuns de morbidade pós-TCTH. Receptores de doadores não aparentados possuem maior risco de infecções tardias sérias (SULLIVAN et al., 1991).

Doença veno-oclusiva hepática é descrita após TCTH alogênico e autogênico e metade ou mais dos pacientes pós-TCTH desenvolvem dois ou três sintomas primários desta condição, como icterícia, hepatomegalia e ascite (ARMITAGE, 1994).

2.4 COMPLICAÇÕES CUTÂNEAS OBSERVADAS NO PERÍODO PÓS-TCTH

A maioria dos pacientes experimenta alterações cutâneas no pós-TCTH. A DECH é considerada o mais importante diagnóstico diferencial, mas muitas são as condições que podem cursar com alterações na pele. No quadro 1 encontram-se as principais alterações cutâneas observadas nos pacientes pós-TCTH (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

QUADRO 1 - DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS PÓS-TCTH

DECH	<ul style="list-style-type: none"> • DECH aguda • DECH crônica
Relacionadas ao tratamento	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome da recuperação linfocitária • Urticária • Reações a drogas • Dermatite acral induzida por quimioterapia • Hidradenite écrina neutrofílica por quimioterapia • Eritema induzido por irradiação • Alopecia secundária a quimioterapia e irradiação
Infecções	<ul style="list-style-type: none"> • Infecções bacterianas • Infecções fúngicas • Infecções virais • Ectoparasitoses • Micobacterioses
Tumores malignos e benignos	<ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma de células basais • Carcinoma de células escamosas • Xantoma • Xantelasma • Poroqueratose
Doenças imunologicamente mediadas	<ul style="list-style-type: none"> • Psoríase • Vitiligo • Eritema multiforme • Eczemas
Manifestações cutâneas de doenças de base	<ul style="list-style-type: none"> • Leucemia cútis
Reações não específicas	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Sweet • Eritema nodoso • Reação tipo ptíriase-rósea • Ictiose adquirida

FONTE: Adaptado de Canninga-Van Dijk et al. (2003)

NOTA: DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro.

2.4.1 Doença do Enxerto contra o Hospedeiro (DECH)

2.4.1.1 Fisiopatologia da DECH

As manifestações da DECH após TCTH alogênico são resultado da transferência de linfócitos T citotóxicos imunocompetentes do doador que reagem contra os antígenos de histocompatibilidade presentes na superfície de células nucleadas do receptor imunocomprometido (HORN, 1994; JEROME et al., 1998; HÄUSERMANN et al., 2008).

Na pele, as alterações são resultado de linfócitos T ativados contra as pontes interqueratinócitos e células de Langerhans (JEROME et al., 1998; CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Billingham (1966) descreveu os três fatores que desencadeiam a DECH: a transferência de células imunocompetentes (células T) viáveis para o hospedeiro; a incompetência do hospedeiro em rejeitar as células enxertadas (imunossupressão); e a disparidade antigênica entre o hospedeiro e o enxerto.

Todos os pacientes que receberam células progenitoras hematopoéticas alogênicas provenientes da MO, do sangue periférico ou do SCU estão sujeitos a desenvolver a DECH. É possível a ocorrência da DECH após os transplantes singênicos e, mais raramente, nos autogênicos. Mesmo quando a compatibilidade do HLA é completa, as células T do doador podem reconhecer no CMH peptídeos derivados de proteínas codificadas por genes polimórficos (PETERS et al., 2000; SUN et al., 2007) e antígenos não-HLA denominados antígenos secundários de histocompatibilidade (VOLTARELLI; STRACIERI, 2000).

Peters et al. (2000) descreveram que a probabilidade de desenvolvimento da DECH nos TCTH HLA-idêntico em pacientes com um a nove anos de idade é de 13% e naqueles entre dez e dezenove anos de idade é de 28%. Nos TCTH HLA-não idêntico as probabilidades são de 42% em pacientes com um a nove anos de idade e de 56% naqueles com 10 a 19 anos de idade.

O modelo de três fases (figura 1) elucida o processo que leva a DECH. A primeira fase envolve a ativação das células apresentadoras de antígenos (CAAs),

a segunda fase consiste na ativação, estimulação e proliferação das células T do doador. Estas duas fases conduzem à DECH. Finalmente, a fase efetora compreende a terceira fase da fisiopatologia da DECH (GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001; SILVA; BOUZAS; FILGUEIRA, 2005; SUN et al., 2007).

a) Primeira fase: ativação das células apresentadoras de antígenos

A ativação de CAAs é o resultado de alterações teciduais que ocorrem devido a doença de base, infecções prévias ao TCTH e ao condicionamento para o TCTH. Estas alterações induzem a secreção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α (Fator de necrose tumoral alfa) e IL-1 (Interleucina-1), que aumentam a expressão de moléculas de adesão e de antígenos do CMH, o que torna mais eficiente o reconhecimento do CMH do tecido do hospedeiro pelas células T alloreativas do doador (JEROME et al., 1998; GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001; SUN et al., 2007). Este cenário está de acordo com a observação de maior incidência da DECH associada a regimes de condicionamento agressivos, doenças malignas em estágios avançados e infecções virais prévias (SUN et al., 2007).

b) Segunda fase: ativação, estimulação e proliferação das células T do doador

A infusão de enxerto com células T imunologicamente competentes do doador permite sua reação com os antígenos do hospedeiro presentes nas CAAs, resultando na segunda fase da DECH. Esta interação produz ativação, proliferação e migração de células T alloreativas do doador. A composição aloantígeno do receptor determina quais as subpopulações de células T envolvidas (GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001; SUN et al., 2007).

Quando ativadas as células T do doador produzem conjunto de citocinas tipo Th1 (célula T *helper* tipo 1), principalmente INF- γ (interferon gama) e IL-2 (interleucina 2), iniciando os eventos inflamatórios da DECH. Evitar a produção de IL-2 pelas células T do doador é o objetivo dos atuais regimes terapêuticos e profiláticos para DECH, como a ciclosporina, tacrolimus e anticorpos monoclonais contra IL-2 e seus receptores (REDDY, 2003).

c) Terceira fase: fase efetora

Fase onde ocorre a disfunção dos órgãos e danos teciduais (GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001; SUN et al., 2007). O mecanismo efetor da DECH pode ser agrupado em efetores celulares (células T citotóxicas) e efetores inflamatórios como as citocinas. Esses dois mecanismos sinergicamente produzem aumento da lesão tecidual e conseqüente inflamação, a qual resulta em apoptose ou morte celular (REDDY, 2003; SUN et al., 2007).

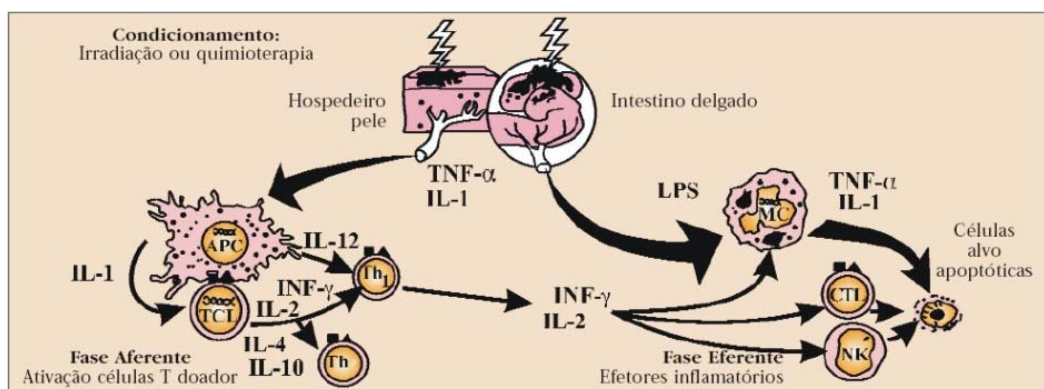


FIGURA 1 - IMUNOFISIOPATOLOGIA DA DECH

FONTE: Silva, Bouzas e Filgueira (2005)

NOTA: IL = Interleucina; TCL = célula T ativada; APC = célula apresentadora de antígenos; Th = célula T *helper*; TNF-α = Fator de necrose tumoral alfa; INF-γ = Interferon gama.

2.4.1.2 Aspectos clínicos da DECH

A DECH é, clinicamente, dividida em aguda e crônica. Historicamente qualquer manifestação da DECH que ocorria até o dia +100 era denominada aguda e aquelas manifestações da DECH que estivessem presentes, ou ainda persistissem, no D +100 ou após, eram definidas como crônicas, mesmo que as manifestações fossem indistinguíveis daquelas da DECH aguda. Com o passar do tempo esta classificação foi modificada. Atualmente sabe-se que a DECH aguda pode ocorrer até três meses após o TCTH e que a DECH aguda e crônica podem estar presentes simultaneamente (figura 2). Portanto, o último consenso considera a DECH aguda ou crônica conforme o tempo de início, apresentação clínica e histológica (GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001; FILIPOVICH et al., 2005).

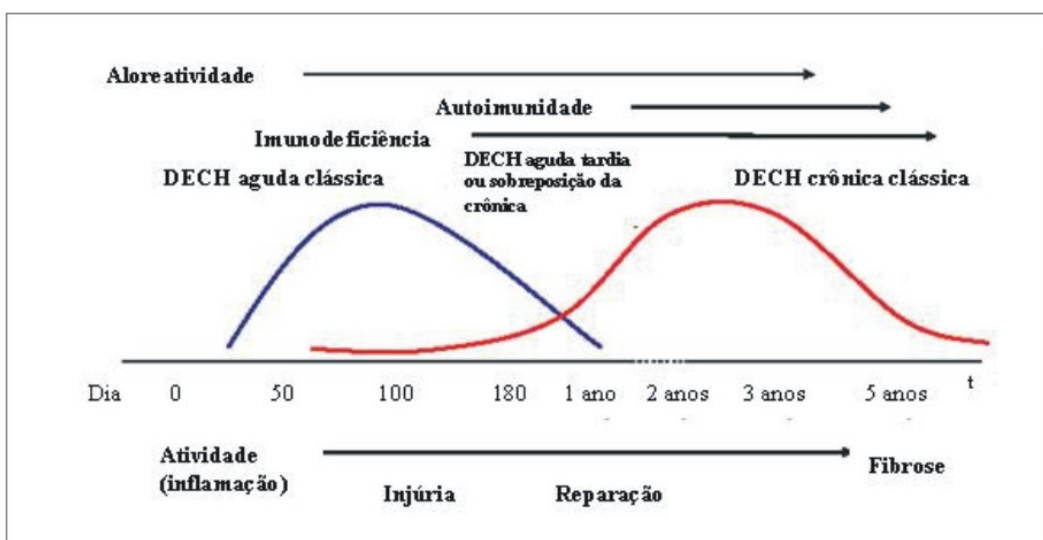


FIGURA 2 - CONCEITO ATUAL DA CLASSIFICAÇÃO DA DECH

FONTE: Adaptado de Häusermann et al. (2008)

NOTA: DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro; t = tempo.

2.4.1.3 DECH hiperaguda

DECH hiperaguda é forma fulminante da DECH aguda, freqüentemente fatal e rara após os avanços da profilaxia. Ela ocorre na primeira semana pós-TCTH e é caracterizada por febre, eritema generalizado, descamação, hepatite, inflamação generalizada e danos vasculares (GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001).

2.4.1.4 DECH aguda

DECH aguda é síndrome que envolve principalmente três sistemas: a pele, o TGI e o fígado (GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001).

A DECH aguda manifesta-se a partir da enxertia, podendo ocorrer por definição até o dia +100 pós-TCTH. O exantema cutâneo é a apresentação clínica mais freqüente. O método mais comum de profilaxia inclui a administração de ciclosporina associada ou não ao metotrexato, uso de corticóides e remoção de células T do hospedeiro (ZHOU; BARNETT; RIVERS, 2000; GOKER; HAZNEDAROGLU; CHAO, 2001; HELDAL et al., 2004; SILVA; BOUZAS; FILGUEIRA, 2005).

a) Fatores de risco para DECH aguda

Conforme Goker, Haznedaroglu e Chao (2001) a incidência da DECH aguda em TCTH alogênico varia principalmente conforme o grau de histocompatibilidade, idade do receptor, fonte e número de linfócitos T infundidos e a estratégia profilática da DECH (quadro 2).

QUADRO 2 - FATORES DE RISCO PARA DECH AGUDA

FATOR DE RISCO	FUNDAMENTO
Histocompatibilidade	Disparidade genética, doador-receptor, no CMH e/ou nos antígenos menores de histocompatibilidade, aumenta o risco de rejeição do enxerto e DECH
Regime de condicionamento com radioterapia e quimioterapia	A intensidade do condicionamento quimioterápico mieloablativo, e a dose de radiação, contribuem para a patogênese da DECH
Microambiente	Microambiente estéril, incluindo descontaminação intestinal, é essencial na prevenção da DECH
Idade do receptor e doador	Idade avançada, do receptor e doador, representa fator de risco significativo para DECH aguda
Gênero do receptor e doador	Diferenças de gênero, entre receptor e doador, podem aumentar o risco da DECH
Fonte de células-tronco hematopoéticas e sua composição	TCTH alogênico não aparentado, com células de SCU, parecem resultar em menor incidência da DECH, em relação aqueles com células da medula óssea
Estado de aloimunização do doador	Multitransfusões afetam significativamente a ocorrência da DECH
Doença de base	Pacientes com leucemia têm maior risco para DECH
Infecções virais	Sorologia positiva para citomegalovírus, em receptor ou doador, aumenta o risco para DECH
Esplenectomia prévia	Esplenectomia, prévia ao TCTH, pode aumentar o risco para DECH
Tipo de profilaxia	A dose empregada de metotrexato e ciclosporina influencia o desenvolvimento da DECH

FONTE: modificado de Goker, Haznedaroglu e Chao (2001)

NOTA: CMH = Complexo maior de histocompatibilidade; DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro; TCTH = transplante de células-tronco hematopoéticas; SCU = sangue de cordão umbilical.

b) Graduação e estadiamento da DECH aguda

Glucksberg et al. (1974) desenvolveram sistema de graduação clínica para DECH aguda, sendo que os estágios de envolvimento da pele, fígado e TGI foram baseados na extensão e gravidade da alteração cutânea, concentrações séricas de transaminase glutâmica oxalacética (TGO), concentrações séricas de bilirrubina e

volume de evacuações líquidas (diarréia). A combinação dos estágios gradua a doença de I à III, e pacientes com sintomas graves são designados grau IV. Estes critérios foram modificados por Thomas et al. (1975) quando as concentrações séricas de TGO não são utilizadas. Em 1994, o Registro Internacional de TMO (IBMTR) estabeleceu consenso para estadiamento clínico da DECH aguda, baseado na experiência com 8249 pacientes de doze grandes centros de TCTH e dois registros de TCTH (PRZEPIORKA et al., 1995), apresentado no quadro 3.

Cahn et al. (2005) ao compararem os sistemas de Glucksberg et al. (1974) e do IBMTR, em estudo multicêntrico com seiscentos e sete pacientes, não encontraram diferenças significativas entre eles. Concluíram ainda que os sistemas de graduação são válidos para: estimativas do prognóstico em determinado momento, associados a outras informações, como escores anteriores ou tempo de evolução; seleção de pacientes para tratamentos diferenciados ou estudos clínicos; e descrição da evolução de estratégias pós-TCTH (CAHN et al., 2005).

QUADRO 3 - ESTADIAMENTO E GRADUAÇÃO PARA DECH AGUDA CONFORME IBMTR

	EXTENSÃO DE ENVOLVIMENTO DO ÓRGÃO		
	Pele	Fígado	TGI
ESTÁDIO			
1	Eritema cutâneo envolvendo < 25% da SC	Bilirrubina 2 - 3 mg/dl	Diarréia > 500 ml/dia ou náusea persistente
2	Eritema cutâneo envolvendo 25-50% da SC	Bilirrubina 3,1 - 6 mg/dl	Diarréia > 1000 ml/dia
3	Eritema cutâneo envolvendo > 50% da SC	Bilirrubina 6,1 - 15 mg/dl	Diarréia > 1500 ml/dia
4	Eritema generalizado com bolhas	Bilirrubina >15 mg/dl	Diarréia > 2000 ml/dia ou dor abdominal intensa, com ou sem íleo
GRAU			
I	Estádio 1 a 2	0	nenhum
II	Estádio 2 a 3	Estádio 1 e/ou Estádio 1	
III	Estádio 2 a 3	Estádio 2-3 e/ou Estádio 2 a 3	
IV	Estádio 2 a 4	Estádio 4 e/ou Estádio 2 a 4	

FONTE: modificado de Przepiorka et al. (1995)

NOTA: SC = superfície corpórea; TGI = trato gastrointestinal.

c) Histologia observada na DECH cutânea aguda

As apresentações histológicas mais frequentes de ambas as formas da DECH, aguda e crônica, são dermatite de interface superficial, com padrão liquenóide, com ou sem satelitose linfocítica, ou com predominância de alterações vacuolares na camada basal (SHULMAN et al., 2006).

Na fase inicial da DECH aguda, a histologia mostra epiderme atrófica com vacuolização basal. Pode ocorrer ortoceratose e/ou paraceratose. Na derme há infiltrado linfocitário perivascular, que pode conter eosinófilos e melanófagos. Cortes mostrando folículos pilosos podem ter alterações vacuolares ou queratinócitos necróticos no epitélio folicular, mesmo quando a epiderme está normal. O diagnóstico diferencial com erupções por drogas pode ser difícil, na DECH aguda geralmente há comprometimento do folículo piloso e infiltrado inflamatório esparsos, e nas reações às drogas, esse infiltrado costuma ser mais denso e com maior número de eosinófilos (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Nas lesões mais tardias da DECH aguda há proeminente vacuolização das células da camada basal e queratinócitos necróticos. Este estágio, da DECH aguda, pode ser muito similar histologicamente ao lúpus eritematoso e dermatomiosite (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Nas lesões fulminantes da DECH aguda há numerosos queratinócitos necróticos com separação subepidérmica, assemelhando-se ao eritema multiforme e à necrólise epidérmica tóxica (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Lerner et al. (1974) criaram sistema de graduação histológica para a DECH aguda, modificado por Horn (1994). São analisadas: as alterações vacuolares das células da camada basal; a presença de espongirose; a disqueratose das células epidérmicas; as fendas subepidérmicas; e a perda da epiderme (quadro 4).

QUADRO 4 - GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA PARA DECH AGUDA

GRADUAÇÃO	HISTOLOGIA
0	Pele normal ou alteração não relacionada à DECH
I	Alteração vacuolar da junção dermo-epidérmica
II	Células disqueratóticas na epiderme e/ou folículo, infiltrado linfocitário dérmico
III	Fusão da vacuolização da camada basal, formando fendas e microvesículas
IV	Separação dermo-epidérmica

FONTE: Horn (1994)

NOTA: DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro.

Este sistema é muito útil para a avaliação da DECH aguda grau III. Naquelas com graduação I ou II o diagnóstico torna-se mais difícil, já que muitos elementos são compartilhados com outras condições (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

2.4.1.5 DECH crônica

A DECH crônica é caracterizada por alteração imunológica, com imunodeficiência que afeta vários órgãos e sistemas e diminui a sobrevida pós-transplante (PAVLETIC et al., 2005). Usualmente envolve pele, fígado, olhos e mucosa oral, mas o TGI, o pulmão e o sistema neuromuscular podem também estar envolvidos (SULLIVAN et al., 1991; CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

a) Fatores de risco para DECH crônica

Os fatores de risco associados são: DECH aguda prévia; algumas doenças de base, como leucemia mielóide crônica e anemia aplástica; receptor com mais de dezoito anos; uso de material de doador não aparentado, ou doador HLA-não idêntico; infusão de linfócitos do doador; uso de células-tronco hematopoéticas derivadas do sangue periférico; não depleção de células T do enxerto; e a combinação de receptor masculino com doador feminino (ARMITAGE, 1994; CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003; LEE; VOGELSANG; FLOWERS, 2003). Fatores de risco controversos são: soropositividade para citomegalovírus (CMV); reativação de CMV; esplenectomia; profilaxia com esteróides

para DECH aguda; diferenças étnicas entre doador e receptor; alta contagem de células CD34 no enxerto; e ausência de metotrexato no esquema profilático para DECH aguda em transplante com uso de células periféricas (LEE; VOGELSANG; FLOWERS, 2003).

b) Classificação e avaliação da DECH crônica

A primeira classificação foi proposta por Shulman et al. (1980), baseada em estudo retrospectivo de vinte pacientes com DECH crônica, e descrevia duas formas, limitada e extensa. A forma limitada era caracterizada por envolvimento localizado da pele com ou sem disfunção hepática, DECH crônica limitada, estava associada com menor gravidade e menor número de infecções. A forma extensa considerava: envolvimento generalizado da pele; ou doença limitada associada a envolvimento ocular, envolvimento oral, disfunção hepática com histologia hepática alterada ou envolvimento de qualquer outro órgão, e estava associada com maior frequência de infecções (SHULMAN et al., 1980). Recentemente Lee, Vogelsang e Flowers (2003) publicaram revisão desta classificação, considerando o grau de envolvimento dos órgãos afetados.

Em 2005, o Instituto Nacional de Saúde Norte-americano publicou recomendações que representam o consenso das opiniões disponíveis na literatura até esta data. Esta publicação desenvolveu critérios mínimos para o diagnóstico clínico de DECH crônica e propôs novo sistema de escore que contempla a extensão e gravidade da DECH crônica, para cada órgão em qualquer tempo da evolução, sendo um guia para a avaliação da gravidade da DECH crônica e ainda indica o uso de terapia tópica ou sistêmica (FILIPOVICH et al., 2005).

Neste consenso são as manifestações clínicas, e não somente o início dos sintomas no pós-transplante, que indicam quando a DECH é aguda ou crônica. O consenso divide os sinais e sintomas em:

- sinais e sintomas diagnósticos da DECH crônica: aquelas manifestações que estabelecem a presença da DECH crônica, sem a necessidade de testes adicionais ou evidências de envolvimento de outros órgãos;
- sinais e sintomas sugestivos da DECH crônica: aquelas manifestações sugestivas da DECH crônica, que não são freqüentemente encontradas na DECH aguda, mas que não são suficientes para estabelecer o diagnóstico da DECH crônica sem testes adicionais ou evidências de envolvimento de outros órgãos;
- outras manifestações da DECH crônica: manifestações raras, controversas ou não específicas da DECH crônica, que não podem ser usadas para estabelecer o diagnóstico da DECH crônica;
- sinais e sintomas comuns: manifestações comuns a DECH aguda e crônica (FILIPOVICH et al., 2005).

Na pele as manifestações diagnósticas incluem (FILIPOVICH et al., 2005):

- poiquilodermia: representada pela presença de telangectasias e alterações pigmentares;
- erupção tipo líquen plano: consiste em pápulas aplanadas, eritematosas a violáceas, ou placas com ou sem superfície reticulada e aparência prateada e brilhante à luz direta;
- esclerose profunda: representada por pele de consistência normal com tecidos subjacentes endurecidos devido à esclerose;
- esclerose superficial tipo morféa: observada como área localizada de pele normal ou brilhante de consistência coriácea, freqüentemente com despigmentação;
- lesões tipo líquen escleroso: representada por pápulas ou placas nacaradas ou acizentadas, brilhantes e com consistência coriácea.

Conforme o quadro 5 a DECH depois do D +100 pode ser classificada como: DECH aguda, persistente, recorrente ou tardia; DECH crônica clássica, com

manifestações somente da DECH crônica; ou sobreposição de síndromes, apresentando manifestações da DECH aguda e crônica (FILIPOVICH et al., 2005).

QUADRO 5 - CLASSIFICAÇÃO DA DECH AGUDA E CRÔNICA

CATEGORIA	INICIO DOS SINTOMAS PÓS-TCTH	PRESENÇA DE MANIFESTAÇÕES DA DECH AGUDA ⁽¹⁾	PRESENÇA DE MANIFESTAÇÕES DA DECH CRÔNICA
DECH aguda			
DECH aguda clássica	Menor ou igual à 100 dias	Sim	Não
DECH aguda persistente, recorrente ou de início tardio	Maior que 100 dias	Sim	Não
DECH crônica			
DECH crônica clássica	Sem limite de tempo	Não	Sim
Síndrome de sobreposição	Sem limite de tempo	sim	Sim

FONTE: Filipovich et al. (2005)

NOTA: TCTH = transplante de células-tronco hematopoéticas; DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro.

(1) eritema cutâneo máculo-papular, náusea, vômito, anorexia, diarreia volumosa, ileo paralítico ou hepatite colestática.

c) Histologia da DECH cutânea crônica

O nível de conhecimento dos padrões da histologia da DECH cutânea crônica está em constante processo evolutivo, as alterações histológicas são modificadas pelo tratamento e em alguns momentos possuem sobreposições daquelas produzidas pela DECH aguda (SHULMAN et al., 2006).

Na lesão tipo líquen plano há espessamento da epiderme devido à acantose, com ortoceratose e paraceratose, hipergranulose, infiltrado linfocitário em faixa ao longo da junção dermo-epidérmica, extensa apoptose e vacuolização dos queratinócitos basais e inflamação peri-anexial (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003; SHULMAN et al., 2006).

Na DECH crônica cutânea esclerótica há homogeneização (esclerose) das bandas de colágeno na derme reticular, geralmente paralelas à superfície da pele, enquanto na esclerose sistêmica o colágeno se estende até o tecido subcutâneo. Na variante morféa, a esclerose pode estar confinada a derme reticular e fáscia, com pouco ou nenhum envolvimento epidérmico. Outra variante, fasceítica, pode mostrar espessamento fibroso somente na fáscia muscular, e com inflamação adjacente,

mas sem nenhum envolvimento epidérmico ou dérmico (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003; SHULMAN et al., 2006).

Conforme o consenso do Instituto Nacional de Saúde Norte-americano, os padrões histológicos podem ser agrupados em quatro categorias: não DECH, quando não há evidências da DECH; DECH provável, quando há evidências da DECH, mas com outras possíveis explicações; consistente com DECH, quando há claras evidências da DECH com outros fatores contribuintes; e DECH, quando há evidências inequívocas da DECH e não há necessidade de outros parâmetros (SHULMAN et al., 2006).

2.4.2 Infecções Observadas nos Pacientes Submetidos ao TCTH

A supressão imunológica dos pacientes submetidos ao TCTH está associada com aumento do risco de infecções. Este risco declina no D +100 em pacientes submetidos ao TCTH autogênico e singênico e em pacientes submetidos ao TCTH alogênico que não desenvolveram DECH crônica (KOSSARD, 2000).

a) Infecções virais descritas nos pacientes submetidos ao TCTH

O eritema cutâneo de etiologia viral é geralmente disseminado, com máculas que freqüentemente confluem. Linfonodomegalia e febre também podem ser observadas (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Infecções virais cutâneas são principalmente devido ao vírus herpes simples tipo 1 e vírus varicela zoster, tanto infecção primária quanto reativação. Pacientes gravemente imunocomprometidos podem apresentar doença disseminada, hemorrágica ou necrótica. Molusco contagioso é comum e tem apresentação clínica variável (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Na histologia a maioria dos exantemas virais mostra apenas infiltrado linfocitário perivascular esparsos. As apresentações histológicas do herpes simples, varicela e herpes zoster são muito similares, inclusões virais podem ser vistas em todas estas infecções (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

b) Micoses observadas nos pacientes submetidos ao TCTH

Os fungos são, freqüentemente, causa de infecções em pacientes pós-TCTH. Nestes pacientes o fator predisponente mais importante é o período de neutropenia (SABLE; DONOWITZ, 1997). O uso profilático de derivados imidazólicos, particularmente fluconazol e itraconazol, durante o período de neutropenia teve impacto positivo, diminuindo o número de infecções fúngicas, embora a incidência de espécies resistentes tenha aumentado (ANNALORO et al., 1995).

Candida albicans causa predominantemente infecção de mucosa e menos freqüentemente lesões cutâneas. Aspergilose cutânea primária é rara, mais freqüentemente as lesões cutâneas são devido à disseminação da doença pulmonar. Outras infecções oportunistas raras são causadas por *Trichosporon beigelii* e *Pityrospum ovale* (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

A histoplasmose é resultado da infecção pelo *Histoplasma capsulatum*, e em pacientes imunodeprimidos tende a invadir o sistema macrofágico, principalmente no sistema cutâneo (SABLE; DONOWITZ, 1997).

Nódulos podem revelar a presença de *Aspergillus*, *Pseudomonas* ou outras variedades de organismos oportunistas, como o *Fusarium* (KOSSARD, 2000).

Quando a histologia mostra neutrófilos na epiderme, especialmente em imunodeprimidos, deve-se procurar por hifas ou pseudohifas (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

c) Micobacterioses nos pacientes submetidos ao TCTH

Em pós-TCTH ocorrem infecções por *Mycobacterium tuberculosis* e por outras micobactérias atípicas. Há relatos de *Mycobacterium haemophilum* e *Mycobacterium fortuitum*. Em biópsias cutâneas de lesões causadas por micobactérias geralmente há combinação de reação tecidual granulomatosa e supurativa. Necrose é achado freqüente, mas nem sempre presente (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

2.4.3 Doenças Imunologicamente Mediadas no Período Pós-TCTH

A evolução de doenças autoimunes pode ser modificada após TCTH alogênico. Há relatos de várias condições imunomediadas que se resolveram após o TCTH, e outras que foram transferidas do doador para o receptor, como tireoidite autoimune, ictiose adquirida, diabetes insulino-dependente, falência poliendócrina autoimune, psoríase e vitiligo (KISHIMOTO et al., 1997; SNOWDEN; HEATON, 1997; NEUMEISTER et al., 2000; ALAJLAN; ALFADLEY; PEDERSEN, 2002; HUANG et al., 2007).

2.4.4 Manifestações Cutâneas das Doenças de Base

Leucemia cútis pode se desenvolver como parte da evolução da leucemia, com pápulas hemorrágicas, nódulos e placas ou como eritema cutâneo. Na histologia, observa-se infiltrado inflamatório difuso na derme, mais denso ao redor de vasos e anexos, a natureza do infiltrado depende do tipo da leucemia (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

2.4.5 Reações Não Específicas no Paciente Submetido ao TCTH

Síndrome de Sweet ou dermatose neutrofílica febril aguda se apresenta com nódulos eritematosos e placas na face e extremidades, associada à febre e leucocitose neutrofílica. A histologia mostra epiderme normal, denso edema das papilas dérmicas e infiltrado neutrofílico denso na derme (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

O eritema nodoso é condição autolimitada que se apresenta com nódulos dolorosos. Histologicamente há paniculite septal (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

A erupção cutânea da recuperação linfocitária foi inicialmente observada em um grupo de pacientes em ablação de medula com terapia citoreduzora para leucemia, e consiste em eritema cutâneo máculo-papular disseminado no momento da recuperação do número de linfócitos na circulação periférica (KOSSARD, 2000; SCHMID et al., 2008). O estudo histológico é inespecífico e mostra infiltrado inflamatório perivascular superficial,

vacuolização da camada basal, espongiose e queratinócito necrótico (KOHLENER et al., 1997; SCHMID et al., 2008).

2.4.6 Reação Cutânea às Drogas no Paciente Submetido ao TCTH

As reações causadas por medicamentos, mais freqüentemente observadas em pacientes pós-TCTH, são exantema, urticária, vasculite e reações bolhosas (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Exantema máculo-papular simétrico pode ocorrer após a administração de antiinflamatórios não-esteróides e antibióticos. Na histologia, observam-se pequenos focos de espongiose e alterações vacuolares de queratinócitos. Na derme superior há infiltrado linfocítico perivascular, contendo na maioria das vezes eosinófilos. A distinção com DECH aguda é difícil (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Diversas drogas podem causar urticária em pacientes pós-TCTH. A urticária pode ser observada após administração de opiáceos ou fator de estimulação de colônias de macrófagos. A reação é causada pela desgranulação dos mastócitos e clinicamente é caracterizada pela urtica. A histologia revela epiderme normal e papilas dérmicas com edema. Entre as bandas de colágeno há eosinófilos e neutrófilos (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

A vasculite por hipersensibilidade evolui com máculas e púrpuras, geralmente nos membros inferiores. Pode estar associada com linfomas, leucemia e síndromes mielodisplásicas, além da administração de várias drogas, como antibióticos, aspirina, cimetidina e fator de estimulação de colônias de macrófagos. Na histologia os pequenos vasos da derme mostram extravasamento de eritrócitos. O diagnóstico diferencial mais importante é com as vasculites não-inflamatórias, como aquelas por trombocitopenia (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Há extenso espectro de erupções bolhosas, como a necrólise epidérmica tóxica (NET) representando a forma mais grave de erupção a drogas. Apresenta-se com placas eritematosas e evolui com bolhas e esfoliação, as membranas mucosas

geralmente estão envolvidas. Na histologia há bolha subepidérmica com queratinócitos necróticos, o infiltrado dérmico perivascular contém linfócitos e macrófagos, essas lesões podem ser de difícil diferenciação com a DECH aguda (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

2.4.7 Reações aos Agentes Quimioterápicos

As reações aos agentes quimioterápicos incluem alopecia, eritema acral, hidradenite écrina neutrofílica e siringometaplasia écrina escamosa (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

Devido aos agentes antimitóticos o crescimento dos pelos é interrompido na fase anágena, resultando em perda difusa dos pelos (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

A quimioterapia pode induzir ao eritema acral, particularmente a citarabina, doxorrubicina e fluorouracil. Erupção autolimitada, o eritema acral é bem caracterizado por ser intenso, doloroso e bem demarcado nas palmas e solas, evoluindo com bolhas e descamação (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003). No eritema acral a histologia mostra espongiose, vacuolização da camada basal, atipia nuclear moderada, dilatação dos vasos dérmicos, edema papilar e infiltrado superficial linfohistiocitário (KOSSARD, 2000).

Eritema flexural pode ser observado com o uso de busulfan. Corticosteróides estão associados com lesões acneiformes (KOSSARD, 2000).

Nas reações induzidas pela citarabina a biópsia mostra epiderme normal, nas glândulas écrinas há vacuolização da camada basal e necrólise das células epidérmicas. Esta condição é conhecida como hidradenite écrina neutrofílica, o desfecho inflamatório da seqüência de reações glandulares écrinas induzidas pela quimioterapia. A siringometaplasia écrina escamosa representa o espectro não-inflamatório destas reações, na qual há apenas metaplasia, sem infiltrado neutrofílico (CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003).

2.5 BIÓPSIAS CUTÂNEAS NO PACIENTE SUBMETIDO AO TCTH

Sugere-se a biópsia cutânea para confirmar diagnósticos clínicos da DECH e para excluir outros processos com apresentações histológicas específicas. Sua especificidade e sensibilidade diminuem quando usada para diagnóstico diferencial da DECH com processos como reações às drogas e exantemas virais, que possuem poucas alterações histológicas específicas, e muitas vezes com interpretação histológica discrepante da clínica (KOHLENER et al., 1997).

Para a maioria das finalidades, é suficiente um *punch* de quatro mm da pele lesionada. O ideal é que a biópsia seja realizada 1 ou 2 dias após o início das alterações, o que permite que a lesão esteja mais desenvolvida, e evita interpretações histológicas equivocadas. Se a pele é esclerótica ou há suspeita de fascíte, um *punch* de seis mm pode mostrar melhor o envolvimento profundo da hipoderme. Lesões morféas requerem biópsias maiores e mais profundas para mostrar a remodelação focal da derme e as alterações da fáscia (SHULMAN et al., 2006).

2.5.1 Interpretação Histológica das Biópsias de Pacientes Submetidos ao TCTH

São muitos os fatores que influenciam a interpretação histológica, como tratamentos imunossupressores, reações às drogas, infecções, o constante processo evolutivo das doenças, fatores técnicos e o momento em que a biópsia é realizada (SHULMAN et al., 2006). A terapia citotóxica pode, por si só ou como fator agravante, produzir quadro histológico indistinguível daquele observado na DECH (SALE et al., 1977).

Zhou, Barnett e Rivers (2000) sugeriram cautela na interpretação de biópsias realizadas no pós-TCTH imediato, definido com variabilidade entre D +10 e D +20. Pois as alterações histológicas causadas pela quimioterapia ou radioterapia podem se sobrepor àquelas devido a DECH aguda nos primeiros dias pós-TCTH. Essa observação também é compartilhada por Loddo (1993), Jerome et al. (1998) e Kohler et al. (1997).

Sviland et al. (1988) realizaram estudo prospectivo de trinta pacientes sob TCTH alogênico e autogênico, e obtiveram biópsias cutâneas previamente ao TCTH,

no D +28, no sexto mês pós-TCTH, e no momento em que houvesse suspeita clínica da DECH. Observaram que alterações consistentes com DECH grau I ou II freqüentemente ocorrem durante o condicionamento, provavelmente induzidas pelos agentes citotóxicos e, no grupo de TCTH autólogo, essas alterações também foram observadas após o transplante e ainda continuavam presentes após quatro semanas e após seis meses do TCTH.

Jerome et al. (1998) investigaram, em pacientes pós-TCTH, a relação entre queratinócitos necróticos e os efeitos do condicionamento ou DECH e demonstraram que queratinócitos necróticos podem ocorrer secundariamente a DECH e ao condicionamento.

Lever et al. (1986) estudaram prospectivamente quinze pacientes que receberam TCTH, realizaram biópsias cutâneas antes e durante o condicionamento, e em pacientes que desenvolveram alterações cutâneas no pós-TCTH. Concluíram que biópsias seqüenciais podem ajudar a estabelecer o padrão histológico do paciente, o que torna as interpretações histológicas subseqüentes mais adequadas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICA DO ESTUDO

Estudo observacional e descritivo baseado em análise retrospectiva de prontuários e amostras de biópsias cutâneas, aprovado pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e Adolescente da Universidade Federal do Paraná e pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Anexo 1) e registrado no BANPESQ sob n.º 2006019347.

3.2 PERÍODO E POPULAÇÃO DE ESTUDO

Este estudo incluiu trinta e seis biópsias obtidas entre janeiro de 2006 à junho de 2007 de alterações cutâneas de vinte e oito pacientes pediátricos (menos de dezoito anos de vida) submetidos ao TCTH no Serviço de TMO - HC-UFPR.

3.2.1 Critérios de Inclusão

Os pacientes incluídos no estudo seguiram os seguintes critérios: 1) submetidos ao TCTH; 2) pediátricos (menos de dezoito anos de vida) e 3) alterações cutâneas submetidas à biópsia no período de janeiro de 2006 à junho de 2007.

3.2.2 Critérios de Exclusão

- Não preenchimento dos critérios acima descritos;
- Material histológico não disponível nos arquivos do Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR.

3.3 COLETA DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS MÉDICOS

Como instrumento de coleta de dados foi desenvolvido protocolo com base na revisão de literatura. Cada biópsia gerou um protocolo numerado, protegendo a identidade do paciente (Apêndice 1).

Os prontuários médicos dos pacientes incluídos no estudo foram obtidos dos arquivos do Serviço de Transplante de Medula Óssea – HC-UFPR. Os prontuários foram revisados e os dados coletados foram:

- gênero;
- data de nascimento: para cálculo da idade no momento do TCTH;
- doença de base
- data do TCTH: para cálculo da idade no momento do TCTH;
- tipo de TCTH e fonte de célula progenitora empregada;
- data do início da alteração cutânea: para cálculo do tempo decorrido desde o TCTH;
- características clínicas da manifestação cutânea que foi biopsiada;
- data da biópsia: para cálculo do tempo decorrido desde o início da alteração;
- hipótese diagnóstica clínica: diagnóstico realizado pela equipe médica do Serviço de TMO - HC-UFPR no momento da alteração cutânea, quando ainda não estava disponível o resultado do estudo histológico;
- diagnóstico histológico: diagnóstico disponível no laudo do Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR;
- conduta terapêutica: conduta terapêutica realizada diante do diagnóstico estabelecido com o conhecimento do estudo histológico.

Os dados obtidos foram armazenados em planilha eletrônica Microsoft Excel® e estão arquivados na Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da UFPR.

3.4 REVISÃO DAS BIÓPSIAS CUTÂNEAS

As lâminas das biópsias foram obtidas dos arquivos do Departamento de Patologia Médica – HC-UFPR, todas estavam em boas condições para estudo histológico, não sendo necessário a confecção de novas lâminas.

As lâminas foram preparadas de acordo com os procedimentos de rotina: fixação (impregnação da amostra com formol), desidratação (banhos sucessivos da amostra em álcoois de teor crescente), diafanização (impregnação da amostra com xilol), impregnação em parafina, inclusão (inclusão da amostra em parafina fundida), cortadas com 4 micrômetros de espessura e coradas com hematoxilina e eosina (HE). Em alguns casos, para esclarecimento da presença de vírus, fungos e bacilos, havia amostras com colorações pelo ácido periódico de Schiff (PAS) e pela Técnica de Ziehl-Neelsen.

As amostras de biópsias cutâneas foram analisadas histologicamente pela pesquisadora em conjunto com médico dermatopatologista (Dr.^a Betina Werner) do Departamento de Patologia Médica – HC-UFPR.

A avaliação das amostras foi realizada nas instalações físicas do Departamento de Patologia Médica – HC-UFPR, através de microscópio biológico trinocular.

Quando a lâmina continha mais de uma secção, era escolhida aquela de maior tamanho.

Os elementos histológicos analisados estão listados no quadro 6.

QUADRO 6 - ELEMENTOS HISTOLÓGICOS ANALISADOS NAS AMOSTRAS DE BIÓPSIAS CUTÂNEAS

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Paraceratose• Atrofia epidérmica• Espongiose• Linfócito epidérmico• Número de queratinócitos necróticos por maior secção da amostra• Atipia nuclear• Vacuolização da camada basal• Infiltrado inflamatório dérmico• Parâmetro histológico de infecção• Melanófago na derme. |
|--|

Os critérios diagnósticos para os elementos histológicos estudados são:

- Paraceratose: retenção dos núcleos na camada córnea;
- Atrofia epidérmica: diminuição numérica e volumétrica das cristas interpapilares, e diminuição do número de células da camada espinhosa com adelgaçamento da epiderme;
- Espongiose: edema intercelular na epiderme;
- Linfócitos epidérmicos: presença de células linfócitos na epiderme;
- Queratinócitos necróticos: redução do tamanho e hipercromasia do núcleo dos queratinócitos;
- Atipia nuclear: variação na forma e tamanho do núcleo celular;
- Vacuolização da camada basal: degeneração e edema celulares na zona de células basais com produção de vacúolos na interface;
- Infiltrado inflamatório dérmico: presença de células inflamatórias na derme;
- Parâmetro histológico de infecção: elemento sugestivo ou diagnóstico de infecção, como inclusão intranuclear ou citoplasmática observada na coloração HE, e hifa, pseudo-hifa, levedura e astrósporo observado na coloração PAS.
- Melanófago: macrófago que fagocitou melanina;

Os dados obtidos foram armazenados em planilha eletrônica Microsoft Excel® e estão arquivados na Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da UFPR.

3.5 IMAGENS HISTOLÓGICAS

Durante a revisão das biópsias, aquelas amostras que apresentaram imagem histológica expressiva para o estudo, foram fotografadas pela Dr.^a Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR, e ilustram o trabalho.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

No estudo das características clínicas dos pacientes e das características clínicas e histológicas das alterações cutâneas foi realizada análise descritiva. As variáveis contínuas, com distribuição assimétrica, estão apresentadas como medianas e seus respectivos intervalos de amplitude (valor mínimo e valor máximo). Na comparação de dois grupos independentes, com distribuição assimétrica, foi aplicado o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Os casos, então, foram divididos em dois grupos, conforme a terapêutica aplicada: grupo DECH, alterações cutâneas que resultaram em tratamento para DECH; e grupo não DECH, casos que não receberam terapêutica para DECH. A divisão da amostra em dois grupos, DECH e não DECH, teve a finalidade de verificar a associação entre as características clínicas e elementos histológicos com a DECH.

O modelo de análise univariada foi utilizado para variáveis clínicas e para cada variável histológica, como discriminador entre DECH e de não DECH. Para a avaliação de associação entre variáveis nominais dicotômicas foi considerado o teste exato de Fisher.

Para todos os testes foi considerado o valor de 5% como nível mínimo de significância ($p < 0,05$).

Para avaliação da associação de cada variável histológica, na presença das demais, com o diagnóstico da DECH, foi ajustado modelo de regressão logística, no qual o diagnóstico clínico-histológico de DECH foi considerado como resposta (variável dependente) e incluiu como variáveis explicativas (variáveis independentes): paraceratose, atrofia epidérmica, espongiose, linfócito epidérmico, atipia nuclear, vacuolização da camada basal, infiltrado inflamatório dérmico e melanófago dérmico. O critério adotado para a seleção das variáveis que deveriam compor o modelo multivariado (Regressão logística) foi a obtenção de valores p para os testes de Wald $< 0,20$.

3.7 FONTE DE DADOS BIBLIOGRÁFICOS

- Periódicos indexados na base MEDLINE (Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica):
 - descritores pesquisados: *bone marrow transplantation; complications bone marrow transplantation; dermatologic complications bone marrow transplantation; skin bone marrow transplantation; graft versus host disease; pathophysiology graft versus host disease; consensus graft versus host disease; cutaneous graft versus host disease; skin biopsies graft versus host disease; histological graft versus host disease; keratinocyte apoptosis;*
 - abrangência da pesquisa: artigos publicados entre 1995 e 2008 e anterior a 1995 quando o artigo apresenta importância histórica ou relevante para este estudo.
- Livros-texto.
- Periódicos nacionais.
- Informes técnicos: processamento de amostras de biópsias cutâneas para estudo histológico.

4 RESULTADOS

Constituíram a amostra deste estudo trinta e seis alterações cutâneas biopsiadas, ocorridas em vinte e oito pacientes. Três pacientes tiveram duas alterações submetidas a biópsias, um paciente apresentou três alterações com biópsia e um outro paciente teve quatro alterações biopsiadas. As alterações observadas em um mesmo paciente representam, em todos os casos, momentos clínicos diferentes.

4.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES

Dos 28 pacientes dezesseis (57,1%) eram do gênero masculino e doze (42,8%) do feminino.

A idade em meses no TCTH, no total de pacientes (n=28), variou entre 11,0 e 204,0 meses, com mediana de 107,0 meses. No gênero masculino a idade foi em mediana de 99,0 meses (19,0 - 182,0 meses) e no feminino de 108,0 meses (11,0 - 204,0 meses), com diferença estatisticamente significativa ($p=0,001$).

As doenças de base dos pacientes (n=28) foram: leucemia linfocítica aguda (n=5), síndrome de Wiskott-Aldrich (n=5), anemia de Fanconi (n=4), anemia aplástica grave (n=3), leucemia mielomonocítica juvenil (n=3), adrenoleucodistrofia (n=2), imunodeficiência combinada grave (n=2), leucemia mielocítica aguda (n=1), linfohistiocitose (n=1), mielodisplasia com monossomia do cromossomo 7 (n=1) e púrpura amegacariocítica (n=1).

A distribuição das doenças de base de acordo com o gênero está apresentada na tabela 1.

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS DOENÇAS DE BASE DE ACORDO COM O GÊNERO

DOENÇA DE BASE	GÊNERO	
	Masculino (n)	Feminino (n)
Leucemia linfocítica aguda	3	2
Síndrome de Wiskott-Aldrich	5	0
Anemia de Fanconi	1	3
Anemia aplástica grave	0	3
Leucemia mielomonocítica juvenil	3	0
Adrenoleucodistrofia	2	0
Imunodeficiência combinada grave	1	1
Leucemia mielocítica aguda	0	1
Linfocitose	0	1
Mielodisplasia com monossomia do cromossomo 7	0	1
Púrpura amegacariocítica	1	0
TOTAL	16	12

Do total de 28 pacientes, oito (28,6%) foram submetidos ao TCTH alogênico aparentado, destes, sete (87,5%) receberam células progenitoras de MO e um (12,5%) de sangue periférico, e vinte (71,4%) foram submetidos ao TCTH alogênico não aparentado, deste grupo, onze (55,0%) receberam células progenitoras de MO e nove (45,0%) de SCU.

4.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS BIOPSIADAS

Do total de alterações cutâneas biopsiadas (n=36) o tempo, entre o TCTH e a alteração cutânea variou de 8,0 dias a 629,0 dias, com mediana de 48,0 dias, sendo menor ou igual a 100 dias em 25 (69,4%) amostras: em onze casos a biópsia foi realizada até o D +21, com diagnóstico clínico de DECH em nove casos; em sete casos as biópsias foram realizadas entre o D +22 e o D +42, havendo cinco casos com diagnóstico de DECH; em sete casos as biópsias foram obtidas entre o D +43 e o D +100 e destas cinco tiveram diagnóstico clínico de DECH. Após o centésimo dia do TCTH foram realizadas onze (30,6%) biópsias, sendo que um caso foi considerado clinicamente como DECH aguda e sete casos como DECH crônica.

O gráfico 1 ilustra a distribuição das alterações biopsiadas de acordo com a sua apresentação clínica.

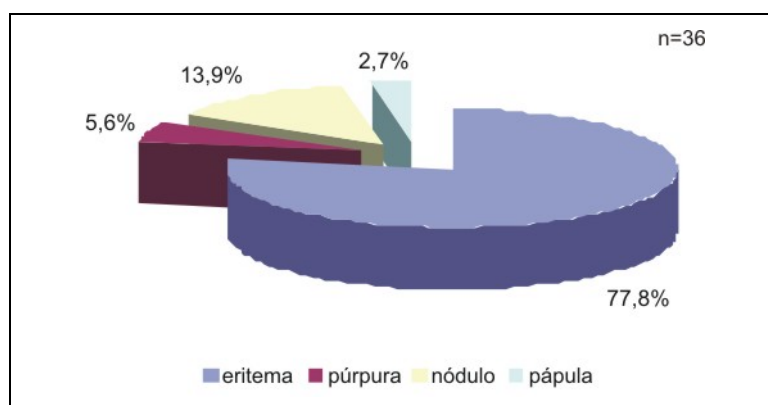


GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS DE ACORDO COM A APRESENTAÇÃO CLÍNICA

Das vinte e oito alterações biopsiadas que se apresentaram com eritema cutâneo, em sete (25,0%) a lesão acometeu menos de 25% da superfície corpórea, em três (10,7%) acometeu entre 25% e 50% da SC e em dezoito (50,0%) foi observada em mais de 50% da SC. Em seis destes casos houve prurido associado (21,7%).

Do total de 36 casos observou-se alteração de mucosa em sete (19,4%).

Os diagnósticos clínicos, realizados sem o resultado do estudo histológico, estão apresentados na tabela 2.

TABELA 2 - DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS

DIAGNÓSTICO CLÍNICO	n
DECH aguda	20
DECH crônica	7
Infecção fúngica	5
Nevo melanocítico	1 ⁽¹⁾
Infecção protozoária	1
Micobacteriose atípica	1
Vasculite não especificada	1
TOTAL	36

NOTA: DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro.

(1) lesão papular acastanhada que surgiu após o TCTH e portanto submetida à biópsia

Em relação ao tempo de obtenção da biópsia, treze amostras (36,1%) foram coletadas até 24 horas do início da alteração cutânea, seis (16,7%) entre 24 e 48 horas e dezessete amostras (47,2%) foram coletadas após 48 horas.

Não houve descrição de complicações decorrentes da biópsia cutânea.

4.3 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS BIOPSIADAS

Das 36 alterações cutâneas biopsiadas o diagnóstico histológico foi específico em 17 (47,2%) casos: DECH (n=12), nevo melanocítico (n=1), microsporidiose (n=1), melanose dérmica pós-inflamatória (n=2) e hialolinfomiose profunda (n=1); e inespecífico em 19 (52,7%) casos, ou seja, apresentaram relatório do estudo histológico apenas com a descrição dos elementos e alterações observadas na amostra ou a descrição de padrão histológico de interpretação variável, como dermatite espongiosa (padrão histológico de edema epidérmico intercelular) ou dermatite de interface (alterações da junção dermo-epidérmica, geralmente por degeneração vacuolar e infiltrado inflamatório).

O estudo histológico confirmou o diagnóstico clínico em 14 casos (38,9%) e destes confirmou diagnóstico clínico da DECH em 12 casos (33,3%). Em 14 casos (38,9%) após o resultado do estudo histológico a conduta clínica foi modificada, seja alterando o diagnóstico ou excluindo uma suspeita diagnóstica (quadro 7).

QUADRO 7 - DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS, HISTOLÓGICOS E CONDUTAS TERAPÊUTICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS

continua

N.º	DIAGNÓSTICO CLÍNICO	DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO	CONDUTAS TERAPÊUTICAS
1	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
2	Infecção fúngica	Descritivo ⁽¹⁾	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
3	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
4	DECH aguda	Descritivo ⁽¹⁾	DECH aguda
5a	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
5b	Nevo melanocítico	Nevo melanocítico composto	Nevo melanocítico
6	DECH aguda	Dermatite de interface	DECH aguda
7	DECH aguda	Descritivo ⁽¹⁾	DECH aguda
8a	DECH crônica	Descritivo ⁽¹⁾	Dermatite atópica
8b	DECH crônica	Descritivo ⁽¹⁾	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
9	DECH crônica	Descritivo ⁽¹⁾	Dermatite atópica
10	DECH crônica	Descritivo ⁽¹⁾	Dermatite atópica
11a	DECH aguda	Descritivo ⁽¹⁾	DECH aguda
11b	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
11c	Infecção fúngica	Melanose dérmica pós inflamatória	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
12a	Micobacteriose atípica	Dermatite espongiosa	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
12b	Infecção protozoário	Melanose dérmica pós inflamatória	Vasculite não especificada

QUADRO 7 - DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS, HISTOLÓGICOS E CONDUTAS TERAPÊUTICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS

N.º	DIAGNÓSTICO CLÍNICO	DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO	conclusão
			CONDUTAS TERAPÊUTICAS
12c	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
12d	Infecção fúngica	Microsporidiose	Infecção protozoário
13	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
14	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
15	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
16	DECH aguda	Descritivo ⁽¹⁾	DECH aguda
17	DECH crônica	Descritivo ⁽¹⁾	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
18	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
19	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
20	Vasculite não especificada	Descritivo ⁽¹⁾	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
21	DECH crônica	Descritivo ⁽¹⁾	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
22	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
23	DECH crônica	Descritivo ⁽¹⁾	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
24	DECH aguda	DECH aguda	DECH aguda
25	DECH aguda	Descritivo ⁽¹⁾	DECH aguda
26a	Infecção fúngica	Hialolinfomicose profunda	Hialolinfomicose profunda
26b	Infecção fúngica	Descritivo ⁽¹⁾	Intercorrência sem terapêutica específica ⁽²⁾
27	DECH aguda	Dermatite de interface	DECH aguda
28	DECH aguda	Descritivo ⁽¹⁾	DECH aguda

NOTAS: n = 36

DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro.

(1) Relatório do estudo histológico onde consta apenas a descrição dos elementos e alterações observados na amostra.

(2) Paciente sem diagnóstico específico e portanto conduzido sem terapêutica adicional.

4.4 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS CONFORME A CONDUTA TERAPÊUTICA

Das 36 alterações cutâneas biopsiadas, em vinte casos foi instituído tratamento para DECH e representam o grupo DECH, e em dezesseis casos não houve tratamento específico para DECH, esses constituem o grupo não DECH.

No grupo DECH as alterações cutâneas ocorreram com mediana de 45,0 dias após o TCTH e se apresentou como eritema (tabela 3).

TABELA 3 - CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS CONFORME A CONDUTA TERAPÊUTICA

VARIÁVEL CLÍNICA	GRUPO DECH (n = 20)	GRUPO NÃO DECH (n = 16)	p
Início da alteração cutânea após o TCTH (dias)	45,0 (8,0 – 150,0)	48,0 (11,0 – 629,0)	
Antes de 100 dias	19	6	⁽¹⁾ 0,001
Após 100 dias	1	10	
Apresentação clínica			
Pápula	0	1	⁽¹⁾ 0,444
Nódulo	0	5	⁽¹⁾ 0,012
Púrpura	0	2	⁽¹⁾ 0,190
Eritema cutâneo	20	8	⁽¹⁾ 0,001

NOTA: DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro; TCTH = Transplante de células-tronco hematopoéticas.

(1) Teste de Fisher.

4.5 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS CONFORME A CONDUTA TERAPÊUTICA

Em oito (40,0%) dos 20 casos que receberam terapêutica para DECH (grupo DECH) o estudo histológico não foi capaz de caracterizar a DECH, representando casos de falso-negativo (tabela 4).

TABELA 4 - ASSOCIAÇÃO ENTRE AS CONDUTAS TERAPÊUTICAS E O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO

DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO	CONDUTA TERAPÊUTICA		TOTAL
	DECH	Não DECH	
Positivo para DECH	12	0	12
Negativo para DECH	8	16	24
TOTAL	20	16	36

NOTA: DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro.

Os elementos histológicos observados se distribuíram entre o grupo DECH e não DECH conforme a tabela 5.

TABELA 5 - CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DAS ALTERAÇÕES CUTÂNEAS CONFORME A CONDUTA TERAPÊUTICA

ALTERAÇÃO HISTOLÓGICA	GRUPO DECH (n/%)	GRUPO NÃO DECH (n/%)	TOTAL (n)	p
Paraceratose	1 / 25,0	3 / 75,0	4	⁽¹⁾ 0,303
Atrofia epidérmica	12 / 80,0	3 / 20,0	15	⁽¹⁾ 0,019
Espongiose	3 / 37,5	5 / 62,5	8	⁽¹⁾ 0,422
Linfócito epidérmico	6 / 60,0	4 / 40,0	10	⁽¹⁾ 1,000
Queratinócitos necróticos ⁽²⁾	4 / 100,0	0 / 0,0	4	⁽¹⁾ 0,113
Atíпия nuclear	13 / 76,5	4 / 23,5	17	⁽¹⁾ 0,023
Vacuolização da camada basal	10 / 83,3	2 / 16,7	12	⁽¹⁾ 0,032
Infiltrado inflamatório dérmico	13 / 52,0	12 / 48,0	25	⁽¹⁾ 0,718
Parâmetro histológico de infecção	0 / 0,0	3 / 100,0	3	⁽¹⁾ 0,078
Melanófago dérmico	2 / 66,7	1 / 33,3	3	⁽¹⁾ 1,000

NOTA: DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro.

(1) Teste de Fisher.

(2) Mais de cinco queratinócitos necróticos/menor secção.

A presença de paraceratose foi mais freqüente em amostras do grupo não DECH (25,0% - 75,0%).

Mais de cinco queratinócitos necróticos (figura 3) por maior secção só foram observados em amostras do grupo DECH.

A maioria das amostras que mostrou vacuolização basal era do grupo DECH (83,3%), resultado semelhante para atrofia epidérmica (figura 4) e atíпия nuclear (figura 5), 80,0% e 76,5% respectivamente.

Amostras com infiltrado inflamatório dérmico e linfócito epidérmico não mostraram diferença na distribuição entre os dois grupos, 52,0% das amostras com infiltrado inflamatório dérmico (figura 6) eram do grupo DECH e a esse grupo pertenciam 60,0% daquelas com linfócito epidérmico (figura 7).

Espongiose (Figura 8) também foi observada com freqüência semelhante entre amostras do grupo DECH e não DECH (37,5% *versus* 62,5%), da mesma forma para melanóforos dérmicos (66,7% *versus* 33,3%).

Ao grupo não DECH pertenceram todas as amostras com parâmetro infeccioso.

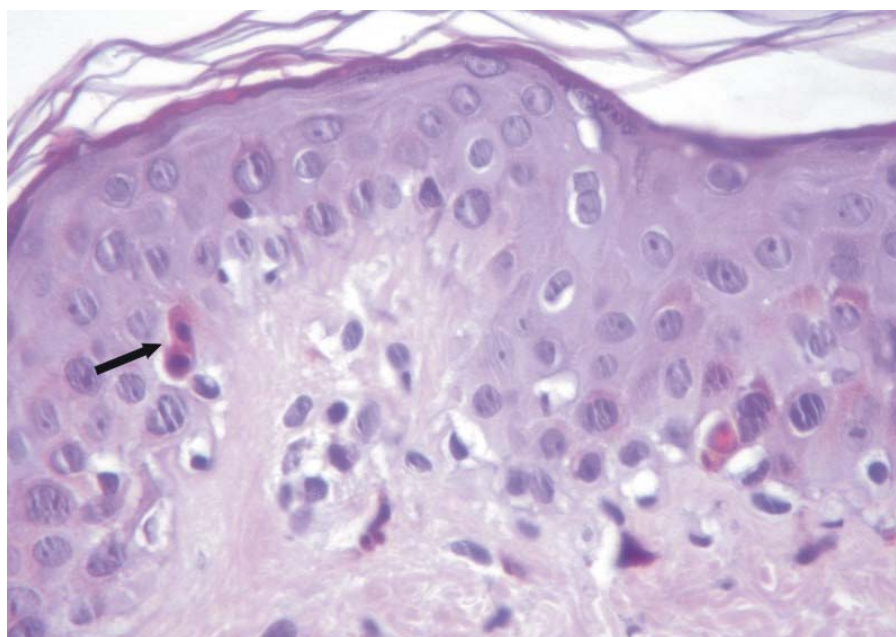
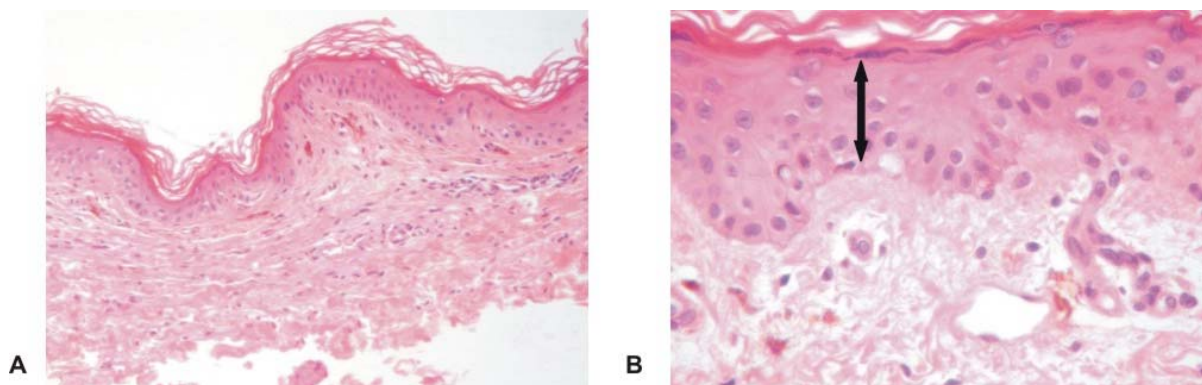


FIGURA 3 - IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO QUERATINÓCITO NECRÓTICO (SETA), MÉDIO AUMENTO

FONTE: Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR



A Atrofia epidérmica, grande aumento

B Detalhe da atrofia epidérmica (seta dupla), médio aumento

FIGURA 4 - IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO ATROFIA EPIDÉRMICA

FONTE: Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR

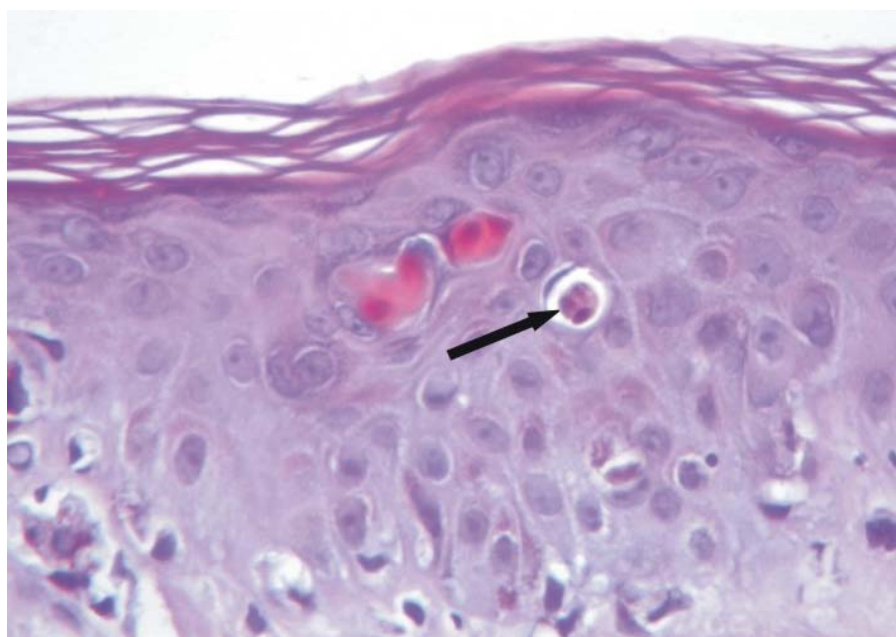


FIGURA 5 - IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO ATIPIA NUCLEAR (SETA), GRANDE AUMENTO

FONTE: Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR

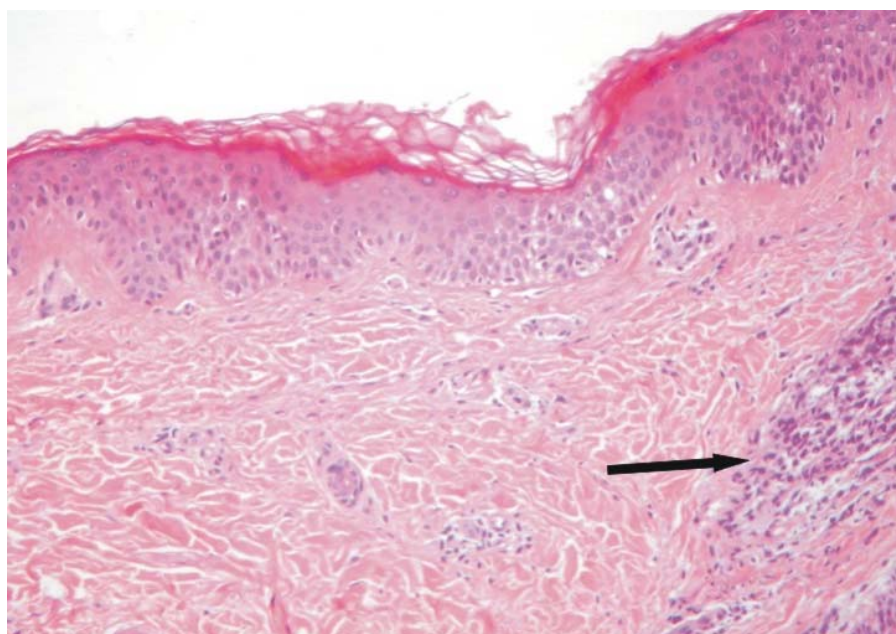


FIGURA 6 - IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO INFILTRADO DÉRMICO DE CÉLULAS INFLAMATÓRIAS (SETA), GRANDE AUMENTO

FONTE: Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR

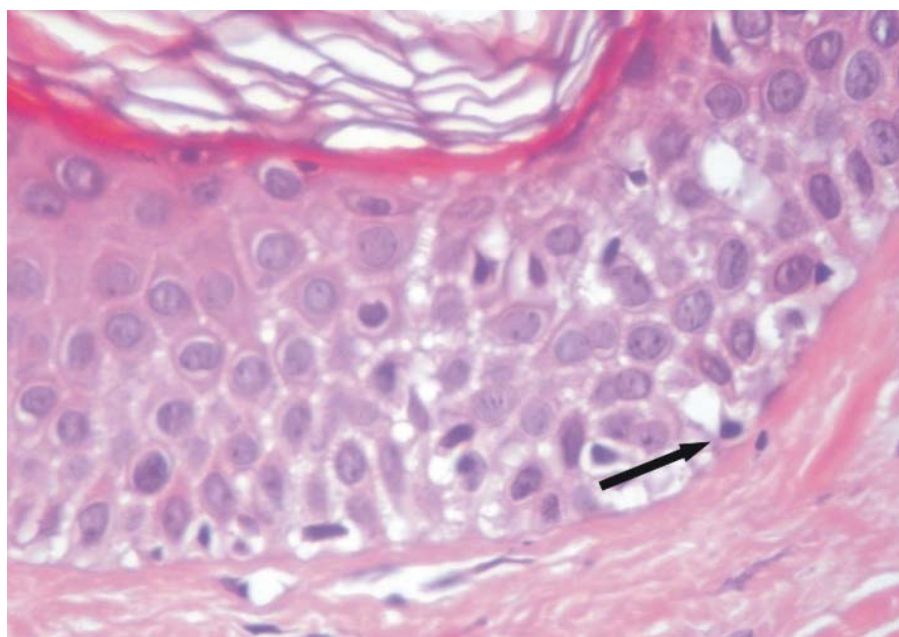


FIGURA 7 - IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO LINFÓCITO EPIDÉRMICO (SETA), MÉDIO AUMENTO

FONTE: Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR

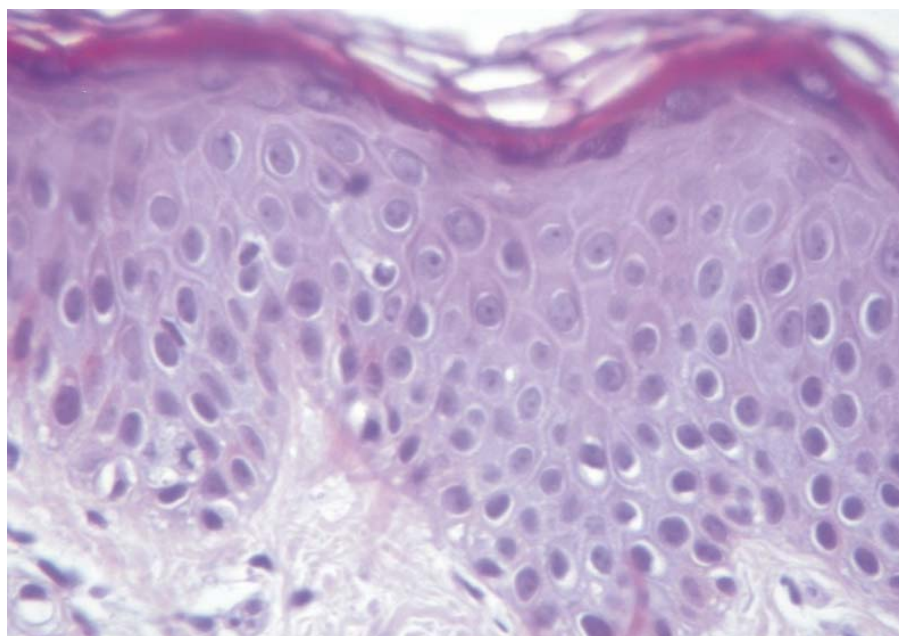


FIGURA 8 - IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO ESPONGIOSE, MÉDIO AUMENTO

FONTE: Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR

4.6 ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS ELEMENTOS HISTOLÓGICOS E O DIAGNÓSTICO DE DECH

Considerando-se o diagnóstico clínico-histológico de DECH como resposta (variável dependente) e incluindo as variáveis explicativas (variáveis independentes): paraceratose, atrofia epidérmica, espongiose, linfócito epidérmico, atipia nuclear, vacuolização da camada basal, infiltrado dérmico e melanófago dérmico, a análise multivariada apresenta os valores descritos na tabela 6.

TABELA 6 - ANÁLISE MULTIVARIADA

VARIÁVEL EXPLICATIVA	OR	IC 95%		VALOR DE p ⁽¹⁾
		Limite inferior	Limite superior	
Paraceratose	0,62	0,36	1,05	0,061
Atrofia epidérmica	1,22	0,83	1,80	0,282
Espongiose	1,18	0,84	1,65	0,325
Linfócito epidérmico	1,06	0,76	1,48	0,730
Atipia nuclear	1,08	0,77	1,50	0,647
Vacuolização da camada basal	1,42	1,01	1,99	0,032
Infiltrado dérmico	0,81	0,62	1,07	0,120
Melanófago dérmico	0,84	0,52	1,36	0,459

NOTA: OR = odds ratio IC = intervalo de confiança.

(1) Modelo de Regressão logística.

Considerando os resultados da análise multivariada, a distribuição da presença e ausência dos elementos histológicos paraceratose (figura 9) e vacuolização basal (figura 10) nas biópsias com o diagnóstico de DECH está apresentada na tabela 7.

TABELA 7 - ANÁLISE DOS ELEMENTOS PARACERATOSE E VACUOLIZAÇÃO DA CAMADA BASAL COM DECH

PARACERATOSE	VACUOLIZAÇÃO BASAL	NÃO DECH		DECH		TOTAL (n)
		%	n	%	n	
Ausência	Ausência	54,5	12	45,4	10	22
Ausência	Presença	10,0	1	90,0	9	10
Presença	Ausência	100,0	2	0,0	0	2
Presença	Presença	50,0	1	50,0	1	2

NOTA: DECH = Doença do enxerto contra o hospedeiro.

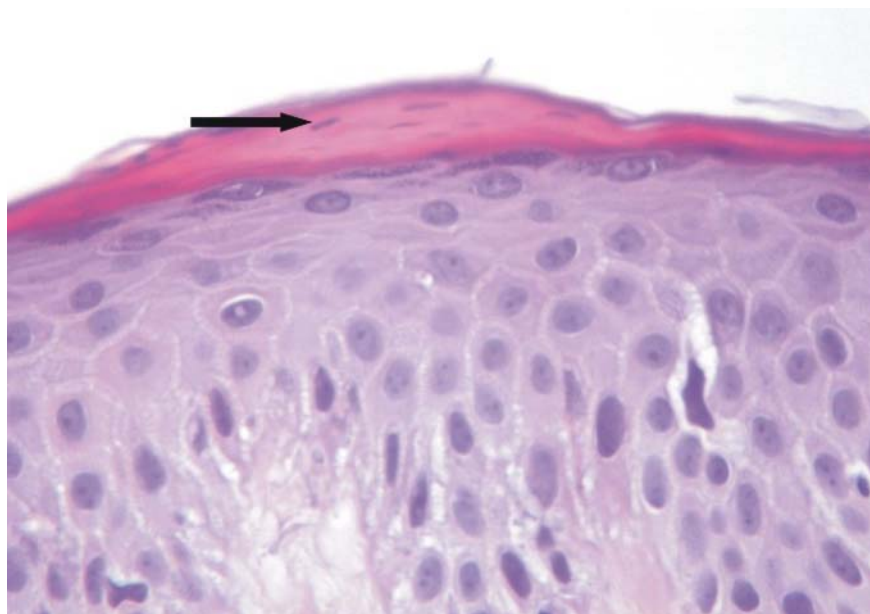
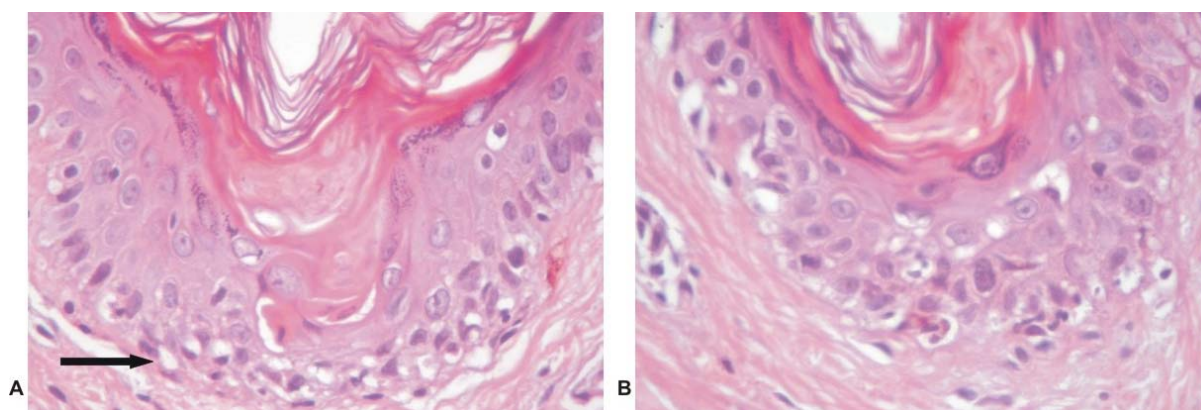


FIGURA 9- IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO PARACERATOSE (SETA) E ESPONGIOSE, MÉDIO AUMENTO

FONTE: Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR



Vacuolização da camada basal (seta), pequeno aumento

Vacuolização da camada basal, médio aumento

FIGURA 10 - IMAGEM HISTOLÓGICA (HE) MOSTRANDO VACUOLIZAÇÃO DA CAMADA BASAL

FONTE: Betina Werner, Departamento de Patologia Médica - HC-UFPR

5 DISCUSSÃO

No período pós-TCTH são descritas várias alterações dermatológicas e a DECH cutânea é a mais extensamente estudada e documentada, pois além de constituir a maior causa de mortalidade e morbidade neste período, a alteração cutânea é geralmente a primeira manifestação clínica e histológica no início da DECH (DARMSTADT et al., 1992; JEROME et al., 1998).

A apresentação clínica mais freqüente da DECH aguda na pele é o eritema que ocorre entre uma a oito semanas após o TCTH (KOSSARD, 2000; CANNINGA-VAN DIJK et al., 2003; HELDAL et al., 2004). Esta apresentação foi observada no presente estudo no qual a DECH cutânea se manifestou clinicamente como eritema cutâneo em média seis semanas após o TCTH. Descrição semelhante foi feita por Darmstadt et al. (1992) e consideraram a extensão do eritema cutâneo como o parâmetro clínico de maior valor preditivo para o desenvolvimento da DECH. Barksdale, Oberlender e Barnhill (1998) relataram que a alteração cutânea da DECH ocorreu com mediana de 22,8 dias após o TCTH, época muito próxima aquela observada no presente estudo.

Apesar da biópsia cutânea ser amplamente utilizada e estudada como exame complementar no pós-TCTH sua interpretação ainda é um desafio, pois várias complicações pós-TCTH, como DECH, reação à quimioterapia, reação a outras drogas e exantema viral, produzem manifestações histologicamente semelhantes, resultando em baixa sensibilidade e especificidade. Porém, neste estudo, a DECH foi a suspeita clínica que mais motivou a realização da biópsia. Apesar das dificuldades na interpretação das biópsias, os profissionais clínicos continuam a realizá-las quando suspeitam da DECH. Zhou, Barnett e Rivers (2000) embora tenham relatado que os estudos histológicos não se correlacionam com a gravidade clínica da DECH e possuam menor importância nas decisões clínicas, relataram realização de biópsia em mais da metade das alterações cutâneas clinicamente sugestivas da DECH. Isto provavelmente ocorre porque a biópsia cutânea é um exame simples e relacionado

com baixas taxas de complicações, no presente estudo em nenhum caso houve complicações associadas a biópsia, e pode ser muito útil na exclusão de diagnósticos com achados histológicos específicos, como infecções por vírus e fungos.

Neste estudo o diagnóstico histológico específico foi possível em quase metade dos casos, sendo a maioria de DECH. Resultados semelhantes foram demonstrados por Hepburn et al. (1993), ao estudarem trinta e quatro biópsias cutâneas pós-TCTH relataram diagnóstico histológico específico em 65%, a maioria DECH. No presente estudo a histologia confirmou o diagnóstico clínico em 14 casos (38,9%) e destes confirmou o diagnóstico clínico de DECH em 12 (85,7%). Em 14 casos (38,9%) o resultado da análise histológica modificou a conduta clínica, seja alterando ou excluindo uma suspeita diagnóstica. Em estudo de Barksdale, Oberlender e Barnhill (1998) os autores observaram alteração da terapêutica após o estudo histológico em apenas 5,5% dos pacientes, e na avaliação de Hepburn et al. (1993) foram observadas alterações do diagnóstico em 77% dos casos. Portanto, há variabilidade no valor da biópsia cutânea para as decisões clínicas. Isto ocorre devido às diferentes prevalências da DECH em cada instituição e suas experiências terapêuticas. Algumas privilegiam a cautela no uso de imunossupressores, pois são relacionados com aumento da morbidade e mortalidade nestes pacientes, e outras afirmam que, como o tempo para o início do tratamento é fator determinante no prognóstico, postergar a terapêutica pode levar a rápida progressão da doença e suas consequências.

Firoz et al. (2006) obtiveram participação de seis dermatologistas e dez oncologistas em hipóteses clínicas sugestivas da DECH cutânea com três decisões possíveis: iniciar tratamento e não realizar biópsia, realizar biópsia e tratar concomitantemente e coletar biópsia e aguardar seu resultado para instituir terapêutica. Considerando a prevalência da DECH nas diferentes instituições, a análise de sensibilidade para biópsia cutânea mostrou que tratar imediatamente e não realizar biópsia seria a melhor opção em instituições onde a prevalência da DECH em pacientes pós-TCTH é maior que 50%, quando a prevalência está entre 30% e 50% seria melhor realizar biópsia e tratar concomitantemente, enquanto que realizar biópsia e aguardar o

resultado para introduzir o tratamento seria a melhor opção em instituições com prevalência da DECH menor que 30%.

A prevalência da DECH entre os casos deste estudo foi de 55,5% (n=20). Em oito (40,0%) dos 20 casos que receberam terapia para DECH o estudo histológico não foi capaz de caracterizar a DECH (falso-negativo).

Não há consenso sobre o momento em que a biópsia cutânea deva ser realizada. Neste trabalho a maioria das amostras foram coletadas após 48 horas do início da alteração cutânea. De acordo com a literatura a interpretação histológica torna-se mais específica em amostras coletadas um ou dois dias após o início das alterações (SHULMAN et al., 2006), o que coloca a maioria das amostras deste estudo dentro do tempo considerado ideal, fato que colaborou para maior confiabilidade dos achados histológicos.

Em 1974, Lerner et al. revisaram o sistema de graduação da DECH baseados no estudo histológico de 70 biópsias cutâneas realizadas em 43 pacientes com DECH no pós-TCTH. Para estes autores, vacuolização da camada basal, espongióse e queratinócitos necróticos são os principais elementos histológicos que devem ser analisados. Infelizmente estes elementos histológicos são encontrados em várias doenças consideradas no diagnóstico diferencial de alterações cutâneas no pós-TCTH. Na tentativa de estabelecer critérios histológicos para o diagnóstico da DECH cutânea vários autores têm estudado o valor dos elementos histológicos para este fim, mas até este momento ainda tenta-se estabelecer critérios mais específicos (LEVER et al., 1986; DARMSTADT et al., 1992; KOHLER et al., 1997; FIROZ et al., 2006).

Horn (1994) sugeriu modificações na graduação de Lerner et al. (1974) ao incluir infiltrado inflamatório dérmico na avaliação. Para o diagnóstico histológico de DECH, Horn (1994) sugere a presença de vacuolização da camada basal, infiltrado inflamatório dérmico, linfócito epidérmico e cinco a dez queratinócitos necróticos por mm linear de epiderme. No presente estudo quatro amostras preencheram estes critérios, todas do grupo DECH.

Ainda neste estudo, a presença de infiltrado inflamatório dérmico não mostrou diferença na distribuição entre os dois grupos: 52,0% das biópsias no grupo DECH e em 48,0% das biópsias no grupo não DECH. Estes resultados concordam com aqueles encontrados por Kohler et al. (1997) e por Sale et al. (1977) que descreveram a presença de infiltrado inflamatório dérmico em quase todas as biópsias pós-TCTH e, portanto, não se mostrou, por si só, elemento discriminatório da DECH.

Elliott et al. (1987) observaram linfócito epidérmico associado a vacuolização da camada basal, espongiose e queratinócito necrótico apenas em biópsias de pacientes que desenvolveram DECH, porém estas mesmas alterações sem linfócito epidérmico foram encontradas em outras doenças. Sale et al. (1977) também consideraram o linfócito epidérmico como um dos elementos diagnósticos da DECH. Porém muitos autores não conseguiram demonstrar sua associação, como fator isolado, para o diagnóstico da DECH (SVILAND et al., 1988; DARMSTADT et al., 1992; KOHLER et al., 1997). Este trabalho também não conseguiu demonstrar esta associação. Quando o linfócito epidérmico é interpretado associado a infiltrado inflamatório dérmico a literatura sugere indícios de uma agressão linfocítica envolvida na fisiopatologia da doença: Sviland et al. (1988) observaram linfócito epidérmico apenas em biópsias de pacientes que desenvolveram DECH após TCTH-alogênico e não naquelas de TCTH autogênico; Jerome et al. (1998) relataram que pacientes pós-TCTH alogênico exibiram inflamação dérmica e epidérmica mais significativas que aqueles pós-TCTH autogênico, cujas alterações secundárias a inflamação se limitavam principalmente a vacuolização basal; e Hymes et al. (1985) referiram associação positiva entre a intensidade da inflamação dérmica e epidérmica com a probabilidade de progressão para DECH grave e que pacientes com DECH grave tenderam a apresentar estas alterações mais precocemente. Este estudo não demonstrou associação entre linfócito epidérmico e infiltrado inflamatório dérmico com DECH.

Alguns autores sugerem que a presença de queratinócito necrótico é característico da DECH e pode distingui-la dos efeitos do condicionamento para o TCTH (FERRARA et al., 1986; FRIEDMAN; LEBIT; FARMER, 1988). Porém a apoptose ocorre

em resposta a várias agressões celulares, incluindo a agressão imunológica da DECH (mediada por citocinas ou linfócitos T ativados) e o condicionamento pré-TCTH (SALE et al., 1977; SVILAND et al., 1988; JEROME et al., 1998). Com a incorporação de novas terapêuticas durante a evolução da técnica do TCTH, a interpretação histológica vem sendo revista. Jerome et al. (1998) ao investigarem a relação entre queratinócitos necróticos e efeito do condicionamento ou DECH, demonstraram que queratinócitos necróticos podem ocorrer secundários ao mecanismo imunológico da DECH, mas também podem ser observados sem evidência de agressão imunológica, principalmente decorrentes do condicionamento. Sale et al. (1977) sugeriram que em pacientes pós-TCTH alogênico com DECH ambos os efeitos, DECH e condicionamento, foram acumulativos. Sviland et al. (1988) ao realizarem biópsias seriadas relataram que alterações histológicas induzidas por drogas citotóxicas ainda continuavam presentes após quatro semanas e após seis meses do TCTH.

No atual estudo, queratinócitos necróticos estavam presentes apenas em amostras do grupo DECH e em todas estas foram contados cinco ou mais por secção de maior tamanho. Nenhuma amostra do grupo não DECH apresentou queratinócito necrótico, o que resultou em ausência de significância estatística para queratinócito necrótico, provavelmente um maior número de amostras permitiria melhor análise. Esta tendência de biópsias de pacientes com DECH apresentarem queratinócitos necróticos, sem contudo mostrar diferença estatisticamente significativa, também foi documentada por Hymes et al. (1985) e Kohler et al. (1997), que ainda observaram maior número de queratinócitos necróticos em biópsias de pacientes com DECH, também sem diferença estatisticamente significativa. Diferentemente, Darmstadt et al. (1992) observaram associação estatisticamente significativa entre baixo número de queratinócitos necróticos e progressão para DECH histológica.

Neste estudo, 83,3% das amostras com vacuolização da camada basal pertenceram ao grupo DECH e em apenas 16,7% daquelas ao grupo não DECH. Já Kohler et al. (1997) observaram vacuolização da camada basal em frequências semelhantes no grupo DECH e no grupo não DECH. Em estudos de biópsias seriadas a

vacuolização é outra alteração que vem sendo associada ao condicionamento: Sviland et al. (1988) citaram a vacuolização das células basais como a alteração mais freqüente antes e depois do transplante e Loddo (1993) encontrou vacuolização da camada basal em biópsias pré e pós-TCTH, com e sem desenvolvimento da DECH, e mais freqüentemente nos primeiros dias pós-TCTH, sugerindo que o condicionamento possa ter efeito importante no seu aparecimento. Embora o significado histológico da vacuolização ainda não seja bem definido, é um elemento que deve ser considerado no estudo histológico, principalmente na fase aguda, pois é considerado uma das primeiras alterações histológicas da DECH aguda (LODDO, 1993).

Este trabalho também mostrou predominância de atipia nuclear no grupo DECH, porém sem significância estatística. Kohler et al. (1997) também não encontraram significância estatística para atipia nuclear como discriminador para DECH, sua presença foi similar no grupo DECH e não DECH.

A presença de atrofia epidérmica neste estudo foi outro elemento com maior freqüência no grupo DECH, porém não mostrou associação com progressão para DECH. A literatura não a considera como achado significativo no diagnóstico da DECH. No diagnóstico diferencial da DECH e esclerodermia, Hymes et al. (1985) consideraram a relativa preservação da epiderme como indicativo de esclerodermia, pois na DECH ela estava alterada.

A presença de paraceratose, neste estudo, foi freqüente e mais observada no grupo não DECH (75,0% *versus* 25,5%). No estudo de Kohler et al. (1997) a presença de paraceratose foi rara e sem significância estatística.

No estudo atual, espongiose estava presente em 37,5% no grupo DECH e em 62,5% no grupo não DECH. Tanto neste trabalho, como no de Kohler et al. (1997), não houve diferença estatisticamente significativa.

Neste estudo, a presença de vacuolização da camada basal apresentou tendência como fator predisponente para DECH e a ausência de paraceratose como fator protetor para DECH, 90,0% das biópsias com vacuolização basal e ausência de paraceratose eram do grupo DECH, porém quando havia paraceratose associada, a

distribuição entre os dois grupos foi igual (50,0% versus 50,0%). Kohler et al. (1997) procuraram, através de regressão logística, fatores discriminantes entre biópsias DECH e não DECH e não encontraram combinação de elementos histológicos capazes de distinguir a DECH.

6 CONCLUSÃO

1. As alterações cutâneas biopsiadas se apresentaram como eritema em média sete semanas após o TCTH. A suspeita clínica da DECH foi o principal motivo para obtenção da biópsia cutânea e seu estudo alterou a conduta clínica em 38,9% dos casos.
2. A prevalência de terapêutica para DECH foi de 67,8% e sua apresentação clínica mais freqüente foi eritema cutâneo em média seis semanas após o TCTH. No estudo histológico, a presença de vacuolização da camada basal apresentou tendência como fator predisponente para DECH e a ausência de paraceratose como fator protetor para DECH.

7 CONSIDERAÇÃO FINAL

O melhor conhecimento da imunopatologia da DECH tem demonstrado o importante envolvimento das citocinas, sugerindo que o estudo imunohistoquímico da pele pode ser útil para o diagnóstico precoce dessa condição. Neste ponto dos estudos da DECH, o próximo passo é detectar e caracterizar as células envolvidas na sua fisiopatologia.

REFERÊNCIAS

- ALAJLAN, A.; ALFADLEY, A.; PEDERSEN, K. T. Transfer of vitiligo after allogeneic bone marrow transplantation. **J Am Acad Dermatol**, v.46, n.4, p.606-10, Apr. 2002.
- ANNALORO, C.; ORIANI, A.; TAGLIAFERRI, E.; BERTOLLI, V.; DELLA VOLPE, A.; SOLIGO, D.; IBATICI, A.; POZZOLI, E.; DELILIER, G. L. Efficacy of different prophylactic antifungal regimens in bone marrow transplantation. **Haematologica**, v.80, p.512-517, 1995.
- ARMITAGE, J. O. Bone marrow transplantation. **N Engl J Med**, v.330, n.12, p.827-38, Mar. 1994.
- AZEVEDO, W.; RIBEIRO, M. C. C. Fontes de células-tronco hematopoéticas para transplantes. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v.33, p.381-389, 2000.
- BARKSDALE, S. K.; OBERLENDER, S. A.; BARNHILL, R. L. "Rush" skin biopsy specimens in a tertiary medical center: diagnostic yield and clinical utility. **J Am Acad Dermatol**, v.38, p.548-554, 1998.
- BILLINGHAM, R. E. The biology of graft-vs-host reactions. In: **The Harvey Lectures**. New York: Academic Press, 1966. v.62. p.21-78.
- CAHN, J.-Y.; KLEIN, J. P.; LEE, S. J.; MILPIED, N.; BLAISE, D.; ANTIN, J. H.; LEBLOND, V.; IFRAH, N.; JOUET, J.-P.; LOBERIZA, F.; RINGDEN, O.; BARRETT, A. J.; HOROWITZ, M. M.; SOCIÉ, G. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moëlle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. **Blood**, v.106, n.4, p.1495-1500, Aug. 2005.
- CANNINGA-VAN DIJK, M. R.; SANDERS, C. J.; VERDONCK, L. F.; FIJNHEER, R.; VAN DEN TWEEL, J. G. Differential diagnosis of skin lesions after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. **Histopathology**, v.42, n.4, p.313-30, Apr. 2003.
- CASTRO JR., C. G.; GREGIANIN, L. J.; BRUNETTO, A. L. Trasplante de MO e trasplante de SCU em pediatria. **J Pediatr**, v.77, n.5, p.345-60, 2001.
- CUTLER, C.; GIRI, S.; JEYAPALAN, S.; PANIAGUA, D.; VISWANATHAN, A.; ANTIN, J. H. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. **J Clin Oncol**, v.19, p.3685-3691, 2001.
- DARMSTADT, G. L.; DONNENBERG, A. D.; VOGELSANG, G. B.; FARMER, E. R.; HORN, T. D. Clinical, laboratory, and histopathologic indicators of the development of progressive acute graft-versus-host disease. **J Invest Dermatol**, v.99, n.4, p.397-402, Oct. 1992.
- ELLIOTT, C. J.; SLOANE, J. P.; SANDERSON, K. V.; VINCENT, M.; SHEPHERD, V.; POWLES, R. The histological diagnosis of cutaneous graft versus host disease: relationship of skin changes to marrow purging and other clinical variables. **Histopathology**, v.11, n.2, p.145-55, Feb. 1987.

- FERRARA, J.; GUILLEN, F. J.; SLECKMAN, B.; BURAKOFF, S. J.; MURPHY, G. F. Cutaneous acute graft-versus-host disease to minor histocompatibility antigens in a murine model: histologic analysis and correlation to clinical disease. **J Invest Dermatol**, v.86, p.371-375, 1986.
- FILIPOVICH, A. H. et al. National institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. diagnosis and staging working group report. **Biol Blood Marrow Transplant**, v.11, n.5, p.945-55, 2005.
- FIROZ, B. F.; LEE, S. J.; NGHIEM, P.; QURESHI, A. A. Role of skin biopsy to confirm suspected acute graft-vs-host disease. **Arch Dermatol**, v.142, n.2, p.175-82, Feb. 2006.
- FRIEDMAN, K. J.; LEBOWITZ, P. E.; FARMER, E. R. Acute follicular graft-vs-host reaction: a distinct clinicopathologic presentation. **Arch Dermatol**, v.124, p.688-91, 1988.
- GLUCKSBERG, H.; STORB, R.; FEFER, A.; BUCKNER, C. D.; NEIMAN, P. E.; CLIFT, R. A.; LERNER, K. G.; THOMAS, E. D. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. **Transplantation**, v.18, n.4, p.295-304, Oct. 1974.
- GOKER, H.; HAZNEDAROGLU, I. C.; CHAO, N. J. Acute graft-vs-host disease Pathobiology and management. **Exp Hematol**, v.29, n.3, p.259-77, Mar. 2001.
- HÄUSERMANN, P.; WALTER, R. B.; HALTER, J.; BIEDERMANN, B. C.; TICHELLI, A.; ITIN, P.; GRATWOHL, A. Cutaneous graft-versus-host disease: A guide for the dermatologist. **Dermatology**, v.216, n.4, p. 287-304, 2008.
- HELDAL, D.; BRINCH, L.; EVENSEN, S. A.; TJØNNFJORD, G. E.; AAMODT, G.; ELGJO, K.; SVILAND, L. Skin biopsies for early diagnosis and prognosis of graft-versus-host disease in recipients of allogeneic stem cells from blood or bone marrow. **Bone Marrow Transplantation**, v.34, n.4, p.345-350, Aug. 2004.
- HEPBURN, N. C.; McLAREN, K. M.; TURNER, M. L.; BEVERIDGE, G. W. The role of skin biopsies in bone marrow transplant recipients. **Q J Med**, v.86, n.11, p.715-7, Nov. 1993.
- HORN, T. D. Acute cutaneous eruptions after marrow ablation: roses by other names? **J Cutan Pathol**, v.21, n.5, p.385-92, Oct. 1994.
- HUANG, J.; POL-RODRIGUEZ, M.; SILVERS, D.; GARZON, M. C. Acquired Ichthyosis as a Manifestation of Acute Cutaneous Graft-Versus-Host Disease. **Pediatr Dermatol**, v.24, n.1, p.49-52, 2007.
- HYMES, S. R.; FARMER, E. R.; LEWIS, P. G.; TUTSCHKA, P. J.; SANTOS, G. W. Cutaneous graft-versus-host reaction: prognostic features seen by light microscopy. **J Am Acad Dermatol**, v.12, n.3, p.468-74, Mar. 1985.
- JEROME, K. R.; CONYERS, S. J.; HANSEN, D. A.; ZEBALA, J. A. Keratinocyte apoptosis following bone marrow transplantation: evidence for CTL-dependent and -independent pathways. **Bone Marrow Transplant**, v.22, n.4, p.359-66, Aug. 1998.

- KISHIMOTO, Y.; YAMAMOTO, Y.; ITO, T.; MATSUMOTO, N.; ICHIIYOSHI, H.; KATSURADA, T.; DATE, M.; OHGA, S.; KITAJIMA, H.; IKEHARA, S.; FUKUHARA, S. Transfer of autoimmune thyroiditis and resolution of palmoplantar pustular psoriasis following allogeneic bone marrow transplantation. **Bone Marrow Transplant**, v.19, n.10, p.1041-3, May 1997.
- KOHLER, S.; HENDRICKSON, M. R.; CHAO, N. J.; SMOLLER, B. R. Value of skin biopsies in assessing prognosis and progression of acute graft-versus-host disease. **Am J Surg Pathol**, v.21, p.988-996, 1997.
- KOSSARD, S. Dermatologic complications. In: ATKINSON, K. et al. **Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation**. 2.ed. Boston: Cambridge University, 2000. p.993-1001.
- LEE, S. J.; VOGELSANG, G.; FLOWERS, M. E.D. Chronic Graft-versus-Host Disease. **Biol Blood Marrow Transplant**, v.9, p.215-233, 2003.
- LERNER, K. G.; KAO, G. F.; STORB, R.; BUCKNER, C. D.; CLIFT, R. A.; THOMAS, E. D. Histopathology of graft-vs.-host reaction (GvHR) in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. **Transplant Proc**, v.6, n.4, p.367-71, Dec. 1974.
- LEVER, R.; TURBITT, M.; MACKIE, R.; HANN, I.; GIBSON, B.; BURNETT, A.; WILLOUGHBY, M. A prospective study of the histological changes in the skin in patients receiving bone marrow transplants. **Br J Dermatol**, v.114, p.161-70, 1986.
- LODDO, G. **Doença do enxerto contra o hospedeiro em transplante de medula óssea: valor da biópsia de pele para o seu diagnóstico**. 1993. Tese (Doutorado) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1993.
- NEUMEISTER, P.; STRUNK, D.; APFELBECK, U.; SILL, H.; LINKESCH, W. Adoptive transfer of vitiligo after allogeneic bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. **Lancet**, v.355, n.9212, p.1334-5, Apr. 2000.
- PAVLETIC, S. Z.; SMITH, L. M.; BISHOP, M. R.; LYNCH, J. C.; TARANTOLO, S. R.; VOSE, J. M.; BIERMAN, P. J.; HADI, A.; ARMITAGE, J. O.; KESSINGER, A. Prognostic factors of chronic graft-versus-host disease after allogeneic blood stem-cell transplantation. **Am J Hematol**, v.78, n.4, p.265-74, Apr. 2005.
- PETERS, C.; MINKOV, M.; GADNER, H.; KLINGEBIEL, T.; VOSSEN, J.; LOCATELLI, F.; CORNISH, J.; ORTEGA, J.; BEKASI, A.; SOUILLET, G.; STARY, J.; NIETHAMMER, D.; EUROPEAN BMT. Statement of current majority practices in graft-versus-host disease prophylaxis and treatment in children. **Bone Marrow Transplant**, v.26, n.4, p.405-11, Aug. 2000.
- PRZEPIORKA, D.; WEISDORF, D.; MARTIN, P.; KLINGEMANN, H. G.; BEATTY, P.; HOWS, J.; THOMAS, E. D. Consensus conference on acute GVHD grading. **Bone Marrow Transplant**, v.15, p.825-828, 1995.
- REDDY, P. Pathophysiology of acute graft-versus-host disease. **Hematol Oncol**, v.21, p.149-61, 2003.

ROCHA, V.; WAGNER JR., J. E.; SOBOCINSKI, K. A.; KLEIN, J. P.; ZHANG, M. J.; HOROWITZ, M. M.; GLUCKMAN, E. Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. **N Engl J Med**, v.342, n.25, p.1846-54, 22 June 2000.

RUBINSTEIN, P.; CARRIER, C.; SCARADAVOU, A.; KURTZBERG, J.; ADAMSON, J.; MIGLIACCIO, A. R.; BERKOWITZ, R. L.; CABBAD, M.; DOBRILA, N. L.; TAYLOR, P. E.; ROSENFELD, R. E.; STEVENS, C. E. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. **N Engl J Med**, v.339, n.22, p.1565-77, Nov. 1998.

SABLE, C. A.; DONOWITZ, G. R. Infections in bone marrow transplant recipients. **Clin Infect**, v.18, p.273-284, 1994.

SALE, G. E.; LERNER, K. G.; BARKER, E. A.; SHULMAN, H. M.; THOMAS, E. D. The skin biopsy in the diagnosis of acute graft-versus-host disease in man. **Am J Pathol**, v.89, p.621-633, 1977.

SCHMID, I.; STACHEL, D.; PAGEL, P.; ALBERT, M. H. Incidence, predisposing factors, and outcome of engraftment syndrome in pediatric allogeneic stem cell transplant recipients. **Biol Blood Marrow Transplant**, v.14, p.438-444, 2008.

SCHMITZ, N.; EAPEN, M.; HOROWITZ, M. M.; ZHANG, M. J.; KLEIN, J. P.; RIZZO, J. D.; LOBERIZA, F. R.; GRATWOHL, A.; CHAMPLIN, R. E.; International Bone Marrow Transplant Registry; European Group for Blood and Marrow Transplantation. Long-term outcome of patients given transplants of mobilized blood or bone marrow: a report from the International Bone Marrow Transplant Registry and the European Group for Blood and Marrow Transplantation. **Blood**, v.108, n.13, p.4288-90, Dec. 2006.

SHULMAN, H. M. et al. Histopathologic Diagnosis of Chronic Graft-versus-Host Disease: National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: II. Pathology Working Group Report. **Biol Blood Marrow Transplant**, v.12, n.6, p.31-47, 2006.

SHULMAN, H. M.; SULLIVAN, K. M.; WEIDEN, P. L.; McDONALD, G. B.; STRIKER, G. E.; SALE, G. E.; HACKMAN, R.; TSOI, M. S.; STORB, R.; THOMAS, E. D. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. **Am J Med**, v.69, p.204-217, 1980.

SILVA, M. M.; BOUZAS, L. F. S.; FILGUEIRA, A. L. Manifestações tegumentares da Doença do enxerto contra o hospedeiro em pacientes transplantados de medula óssea. **An Bras Dermatol**, v.80, n.1, p.69-80, 2005.

SNOWDEN, J. A.; HEATON, D. C. Development of psoriasis after syngeneic bone marrow transplant from psoriatic donor: further evidence for adoptive autoimmunity. **Br J Dermatol**, v.137, n.1, p.130-2, July 1997.

SULLIVAN, K. M.; AGURA, E.; ANASETTI, C.; APPELBAUM, F.; BADGER, C.; BEARMAN, S.; ERICKSON, K.; FLOWERS, M.; HANSEN, J.; LOUGHRAN, T. et al. Chronic graft-versus-Host disease and other late complications of bone marrow transplantation. **Semin Hematol**, v.28, n.3, p.250-259, 1991.

SUN, Y.; TAWARA, I.; TOUBAI, T.; REDDY, P. Subspecialty in translational Medicine Pathophysiology of acute graft-versus-host disease: recent advances. **Transl Res**, v.150, n.4, p.197-214, Oct. 2007.

SVILAND, L.; PEARSON, A. D.; EASTHAM, E. J.; HAMILTON, P. J.; PROCTOR, S. J.; MALCOLM, A. J. Histological features of skin and rectal biopsy specimens after autologous and allogeneic bone marrow transplantation. **J Clin Pathol**, v.41, n.2, p.148-54, Feb. 1988.

THOMAS, E. D. Bone marrow transplantation: a historical review. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v.33, n.3, p.209-18, jul./set. 2000.

THOMAS, E. D.; STORB, R. Technique for human marrow grafting. **Blood**, v.36, p.507-515, 1970.

THOMAS, E.; STORB, R.; CLIFT, R. A.; FEFER, A.; JOHNSON, F. L.; NEIMAN, P. E.; LERNER, K. G.; GLUCKSBERG, H.; BUCKNER, C. D. Bone-marrow transplantation (first of two parts). **N Engl J Med**, v.292, n.16, p.832-43, Apr. 1975.

TMO Brasil. **Histórico do Transplante de Medula Óssea**. Disponível em: <www.tmobr.com.br/tmo.html>. Acesso em: 23 jun. 2008.

VOLTARELLI, J. L.; STRACIERI, A. B. P. L. Aspectos imunológicos dos transplantes de células-tronco hematopoéticas. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v.33, p.443-462, 2000.

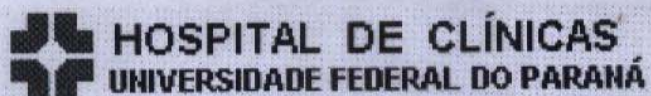
ZHOU, Y.; BARNETT, M. J.; RIVERS, J. K. Clinical significance of skin biopsies in the diagnosis and management of graft-vs-host disease in early postallogeneic bone marrow transplantation. **Arch Dermatol**, v.136, n.6, p.717-21, June 2000.

APÊNDICE

PROTOCOLO PARA COLETA DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS MÉDICOS

N.º protocolo:			
N.º TMO:			
Gênero:	M	F	
Data de nascimento:			
Doença de base:			
Data do TCTH:			
Tipo de TCTH:	Alo aparentado	Alo não aparentado	Outro:
Fonte de célula progenitora:	MO	SCU	Sangue periférico
Data da alteração cutânea:			
Clínica:			
Data da biópsia:			
Hipótese diagnóstica clínica:	DECH	Outra:	
Diagnóstico histológico:	DECH	Outro:	
Diagnóstico clínico-histológico:	DECH	Outro:	

ANEXO
PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISAS EM SERES HUMANOS DO HC-UFPR



HOSPITAL DE CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Curitiba, 02 de junho de 2006.

Ilmo (a) Sr. (a)
Dra. Angélica Vasselai
Nesta

Prezada Pesquisadora:

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DOS DIAGNÓSTICOS HISTOPATOLÓGICOS DAS ALTERAÇÕES DE PELE EM PACIENTES PEDIÁTRICOS SUBMETIDOS A TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS NO SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA DO HC/UFPR", foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 30 de maio de 2006. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0057.0.208.000.06
Registro CEP: 1222.070/2006-05

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 30 de novembro de 2006.

Atenciosamente,

Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR